

BIBLIOTHEEK
LEESMUSEUM
AMSTERDAM.

Afd. *Gink*
N^o. *4640*

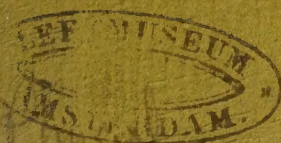
4640

THESIS. AMSTERDAM. 1909.

AUTOLYSE VAN BLOED.

[SCHIPPERS...

J. C. SCHIPPERS.





Gift of
Mr. William Wreden



LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF.

AUTOLYSE VAN BLOED.



AUTOLYSE VAN BLOED.

ACADEMISCH PROEFSCHRIFT
TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN
DOCTOR IN DE GENEESKUNDE AAN
DE UNIVERSITEIT VAN AMSTERDAM,
OP GEZAG VAN DEN RECTOR MAGNIFICUS
DR. M. STRAUB, HOOGLEERAAR IN DE
FACULTEIT DER GENEESKUNDE, IN HET
OPENBAAR TE VERDEDIGEN IN DE AULA
DER UNIVERSITEIT OP DONDERDAG DEN
16^{DE}N DECEMBER 1909, DES NAMIDDAGS TE
3^{1/2} UUR, DOOR * * * * *
JAN CORNELIS SCHIPPERS,
* * GEBOREN TE GRONINGEN * *



AAN MIJN OUDERS
EN
AAN DE NAGEDACHTENIS
VAN MIJN OOM SYBREN.

Bij het eindigen van mijn Academische studie dank ik U, Hooggeleeraren en Privaatdocenten in de faculteiten der Geneeskunde en der Natuurphilosophie voor het van U ontvangen onderwijs.

In het bijzonder U, Hooggeleerde RUITINGA, Hooggeachte Promotor, dank ik voor Uw belangstelling en steun, zoowel bij dit onderzoek als gedurende den tijd, dat ik als Uw assistent werkzaam was.

Dat ik wederom, nu als Uw assistent, Hooggeleerde PEL, van Uw voortreffelijk onderricht kan genieten, beschouw ik als een bijzonder voorrecht.

Voor de vele steun, die ik van U, Zeergeleerde STEENSMA, aan het Pathologisch Laboratorium heb ondervonden, en die me ook bij dit onderzoek steeds welkom was, betuig ik U gaarne mijn erkentelijkheid.

De leerzame tijd, die ik in het Wilhelmina-Gasthuis onder Uw leiding doorbracht, Zeergeleerde KUIPER, blijft bij mij in dankbare herinnering.

HOOFDSTUK I.

OMSCHRIJVING VAN HET BEGRIP AUTOLYSE. LITTERATUUR. OVERZICHT. METHODE. CHEMISME. INVLOED VAN VER- SCHILLENDE AGENTIA OP DE AUTOLYSE. EIGEN- SCHAPPEN VAN HET AUTOLYTISCH FERMENT. BETEEKENIS VOOR DE PHYSIOLOGIE EN DE PATHOLOGIE.

„Unter Autolyse verstehen wir die Summe der chemischen Vorgänge, die sich in tierischen Organen oder Flüssigkeiten abspielen, wenn wir dieselben nach der Abtrennung vom Gesamtorganismus unter Bedingungen aufbewahren, welche die Mitwirkung von Micro-organismen ausschlieszen“. Aldus luidt de definitie door SALKOWSKI¹⁾ gegeven van de groep van verschijnselen, waarmee dit onderzoek zich bezig houdt. De naam autolyse is afkomstig van JACOBY, die voorstelde hem te gebruiken in plaats van autodigestie, waarvan SALKOWSKI vroeger had gesproken, en wel om de analogie uit te drukken met processen als karyolyse, haemolyse e. d.²⁾

De oudste studie over autolyse schijnt die van CLOETTA³⁾ te zijn; zij dateert van 1856 en bevat de mededeeling,

¹⁾ Deutsche Klinik, 11, 147, 1904.

²⁾ HOPPE SEYLER'S Zschr. 30, 149, 1900.

³⁾ Annal. de Chim. et de Physique 46, 369, 1856.

dat er bij het bewaren van versche runderlongen in koud water monoaminozuren optreden, nl. leucine en taurine. Dit onderzoek is geheel onopgemerkt gebleven (LAUNOIS¹⁾).

Veel later vond SCHÜTZENBERGER¹⁾, dat biergist, in water van 35°—40° C. bewaard, zelfgisting ondergaat, en dat zich daarbij de volgende producten vormen: koolzuur, glucose, phosphorzuur, leucine en tyrosine; hij voegt aan zijn mededeeling toe, dat genoemde producten ontstaan door de werking van de gistcellen op zichzelf en niet door rotting.

HOPPE SEYLER²⁾ wees omstreeks dezen tijd op de analogie, die er bestaat tusschen de maceratie van afgestorven organen en de vertering door fermenten als pepsine. Ook door HÜFNER³⁾ zijn onderzoekingen gepubliceerd, die langen tijd onopgemerkt zijn gebleven; hij verkreeg uit speekselklieren van een varken en uit kalfslongen door extractie met glycerine volgens de methode van VON WITTIG en daaropvolgende praecipitatie met alcohol een stof, die fibrine verteerde.

BÉCHAMP⁴⁾ was de eerste, die een antisepticum en wel kreosoot, toevoegde aan een lever, die hij aan autolyse overliet. Enkele jaren later trachtte KOSSEL⁵⁾ aan te toonen, dat gist, die ten eigen nutte leeft, uit nucleïnen xanthinebasen afsplitst.

Met de onderzoekingen van SALOMON⁶⁾, die in lijken-

¹⁾ Bull. de l'Inst. Pasteur 6, 290, 1908. SCHÜTZENBERGER. Bull. Soc. Chim. de Paris 1, 204, 1874 (Ref.).

²⁾ Tübinger Beiträge 499, 1871 (Ref. n. SALKOWSKI l. c.)

³⁾ Journal f. pract. Chim. 5 N. F. 372, 1872.

⁴⁾ C. R. Académ. des Sciences 1875, 1830.

⁵⁾ HOPPE SEYLER's Zschr. 7, 14, 1882.

⁶⁾ HOPPE SEYLER's Zschr. 2, 64, 1878.

bloed hypoxanthine vond, welke stof hij niet in versch, door aderlating verkregen bloed kon aantoonen, nemen de begrippen over fermentatieve werkingen bij deze processen een vastere vorm aan. Een paar jaar daarna ¹⁾ vond hij, dat lever en spieren in verschen toestand minder hypoxanthine bevatten, dan nadat zij 4—24 uur bij kamertemperatuur hadden gelegen. Ter verklaring schrijft hij: „Die Producte fermentativer Spaltung, welche „im lebenden Tier durch Oxydation in dem Masz, wie „sich bilden, wieder zerstört werden, bleiben in den „Gewebe liegen. Sie bilden sich im lebenden Organismus so gut wie im abgestorbenen, aber Gelegenheit „zur Anhäufung finden sie nur im letzteren” ²⁾.

SCHMIEDEBERG ³⁾ liet verschillende stoffen, gemengd met versch bloed, door pas uit het levende lichaam genomen organen stroomen, om de oxydaties, splitsingen en synthesen, welke tijdens het leven plaats vinden, te bestudeeren. Zonder het woord ferment te noemen, wijst hij telkens op de eigenaardige werkingen der lichaams-cellen: „Dass in den Gewebe thatsächlich Bedingungen „gegeben sind, welche auf die verschiedenartigsten Substanzen einen tief greifenden Einfluss ausüben, dass „beweisen die daselbst zu stande kommenden Synthesen”.

SALKOWSKI komt ongetwijfeld de eer toe het vraagstuk der autolyse omljnd te hebben en de principes der methodiek te hebben aangegeven. Nadat hij chloroform als het best bruikbare antisepticum had leeren kennen, toonde hij aan, dat biergist, bewaard in chloroformhoudend water, ten koste van zichzelf bepaalde producten levert,

¹⁾ Arch. f. Anat. u. Physiol. 1881, 361.

²⁾ SCHMIEDEBERG's Archiv 14, 298, 1881.

³⁾ PFLÜGER's Archiv 3, 341, 1870.

die zich niet vormen, wanneer de gist vooraf tot 100° C. is verhit. Bij dit proces ontstaan glucose, koolzuur en alcohol uit de praeëxistente koolhydraten, leucine en tyrosine uit de nucleoalbuminen der cellen.

Daar bacteriënwerking is buitengesloten en het protoplasma gedood is door de chloroform, kan hier dus slechts sprake zijn van fermentwerkingen.¹⁾

In het volgende jaar (1890) publiceerde SALKOWSKI²⁾ zijn onderzoekingen over autolytische verschijnselen van de lever; hier wordt de techniek aangegeven, die in principe door alle latere onderzoekers is gevolgd, en het verschijnsel bij de lever uitvoerig behandeld.

Veel later, in een monografie in de Deutsche Klinik (l.c.) geeft SALKOWSKI een overzicht van den stand der kwestie, waarin hij tevens voor zich de prioriteit op-eischt. SCHÜTZENBERGER's proeven, die boven reeds ver-meld werden, worden beschouwd als niets met autolyse hebbende uit te staan, en wel op grond van een onjuiste verklaring, die deze schrijver heeft gegeven: „Inanition, Entkräftung, Erschöpfung aus Mangel an Nahrung”. Verder zegt SALKOWSKI, dat hij in 't geheel niet door SCHÜTZENBERGER's proeven gekomen is tot zijn studies over autolyse, doch: „die Lehre der Autolyse ist vielmehr „ausschliesslich aus physiologischen und pathologischen „Beobachtungen und Vorstellungen erwachsen; die „Versuche Schützenbergers haben auf sie keinen bestim-„menden Einfluss gehabt”. Het is wel toevallig, dat SALKOWSKI's eerste proeven evenals die van SCHÜTZENBERGER met biergist werden gedaan, terwijl slechts hun

¹⁾ HOPPE SEYLER's Zsch. 13, 506, 1889.

²⁾ Zsch. f. klin. Med. 17 Suppl. 77, 1890.

antisepticum verschilt. Hoe dit ook zij, evenals bij alle belangrijke vraagstukken, zoo zijn ook hier voorloopers voorafgegaan aan den man, die ten slotte een scherpere formuleering voor de feiten heeft gevonden, en hunne beteekenis juist heeft gewaardeerd.

Daar men reeds spoedig het groote belang van de autolyse inzag voor de studie der intracellulaire stofwisselings-processen, in het gezonde zoowel als in het zieke organisme, is het verschijnsel door verschillende onderzoekers nader bestudeerd; onder hen neemt JACOBY¹⁾ een belangrijke plaats in.

Omdat de functie der lichaamscellen niet onmiddellijk met den dood van het individu ophoudt, is het mogelijk haar in vitro te bestudeeren. Hierbij moet men onderscheid maken tusschen de werkzaamheid van het protoplasma en die van de in de cel aanwezige fermenten. Het protoplasma sterft af door toevoeging van antiseptica, vooral van chloroform; de fermenten worden hierdoor niet beschadigd.

Wanneer men nu de werking van de endo-cellulaire fermenten bestudeeren wil, volgt men de hieronder beschreven algemeene methode.

Een orgaan wordt fijn gemaakt b.v. met behulp van een vleeschmachine, een bepaalde hoeveelheid water toegevoegd en tevens een antisepticum om bacteriënwerking te voorkomen en om het protoplasma der cellen te doden. Dan worden een even aantal gelijke porties in flesschen gevoegd en de helft hiervan tot 100° C. verhit met de bedoeling om de fermenten onwerkzaam te maken. Alle flesschen worden nu goed gesloten in

¹⁾ HOPPE SEYLER'S. Zsch. 30, 149, 1900.

een broedstoof geplaatst bij 37° — 40° en na bepaalde tijden worden er telkens een niet vooraf verhitte en een vooraf verhitte portie orgaanbrij uitgenomen. Onmiddellijk na opening geschiedt bacteriologische contrôle of de inhoud der flesschen steriel is gebleven. De beide porties worden dan onteiwit, wat natuurlijk op verschillende wijzen geschieden kan; daarna wordt gefiltreerd en in de filtraten worden verschillende bepalingen gedaan, b.v. van de hoeveelheid opgeloste stikstof, ammoniak, aminozuren e.d.¹⁾ Het verschil tusschen beide filtraten is het gevolg van de fermentwerkingen.

De beschreven methode is die der antiseptische autolyse; zij is de meest gebruikelijke. Naast haar staat de aseptische autolyse, welker methodiek wegens den eisch, dat er geheel steriel gewerkt moet worden, veel omslachtiger en moeielijker is. De voordeelen van de aseptische methode zijn, dat de autolytische verschijnselen veel sneller verlopen; hierbij komt echter het nadeel, dat in 't begin van de proef nog protoplasmawerking aanwezig is, zoodat de resultaten niet uitsluitend afhankelijk zijn van fermentwerking.

De eerste proeven zijn gedaan aan het fermentrijkste orgaan, de lever. Doch geleidelijk is gebleken, dat men alle dierlijke organen autolyse kan laten ondergaan. Zoo toonde reeds spoedig na SALKOWSKI'S publicatie SCHWIENING autolyse aan van spieren²⁾, JACOBY van de longen³⁾, HEDIN en ROWLAND⁴⁾ van het perssap van milt,

¹⁾ Onder opgeloste stikstof wordt verstaan de stikstof afkomstig van niet coaguleerbare verbindingen.

²⁾ VIRCHOW'S Archiv 136, 444, 1894.

³⁾ HOPPE SEYLER'S Zschr. 33, 136, 1901.

⁴⁾ HOPPE SEYLER'S Zschr. 32, 341 en 531, 1901.

nieren en lymphklieren, OKER BLOM¹⁾ van de bijnieren, MATTHES²⁾ van de placenta, KUTSCHER³⁾ van den thymus, dezelfde auteur met SEEMANN⁴⁾ van den darmwand, LANGSTEIN en NEUBAUER⁵⁾ van den uterus, BAUM⁶⁾ van het pancreas, MOCHIZUKI en YOKATE⁷⁾ van de testes.

Het ligt voor de hand te veronderstellen, dat de celrijkste organen en jonge, krachtig groeiende weefsels het intensiefst autolyse zullen vertoonen.

Dit wordt waarschijnlijk gemaakt door de proeven van SCHLESINGER⁸⁾, die de autolyse onderzocht van levers van konijnen van verschillende leeftijd. Bij het pasgeboren dier bleek zij zeer intensief tot den leeftijd van 8 dagen, om daarna geleidelijk te dalen tot een vrij constante waarde bij 2 maanden en ouder; bij jong gestorven kinderen nam hij geen regelmaat waar zoo als bij jonge konijnen. Wel bleek bij den mensch (neonatus) de autolyse van de lever des te intensiever naarmate de dood korter vóór de geboorte plaats vond; reeds in utero is zij krachtig.

MENDEL, LEAVENWORTH en LAFAYETTE⁹⁾ vonden bij embryonen van verschillende leeftijd geen verschil bij de autolyse der levers, ook geen intensievere werking dan op volwassen leeftijd.

1) HOPPE SEYLER'S Zschr. 27, 60, 1899.

2) HOFMEISTER'S Beitr. 3, 576, 1903.

3) HOPPE SEYLER'S Zschr. 34, 114, 1901.

4) HOPPE SEYLER'S Zschr. 35, 432, 1902.

5) Münch. m. W. 1902, 1249.

6) HOFMEISTER'S Beitr. 3, 439, 1903.

7) HOPPE SEYLER'S Zschr. 43, 165, 1904.

8) HOFMEISTER'S Beitr. 4, 87, 1904.

9) Zentrbl. ges. Physiol. u. Pathol. Stoffwechs. 9, 894, 1908 (Ref.).

De wijze, waarop de eiwitten bij de autolyse der organen worden afgebroken, is wel het uitvoerigst bestudeerd, doch ook andere groepen van lichamen, zooals glycogeen en vetten, worden ontleed.

Bij de eerste onderzoekingen heeft men alleen de hoeveelheid stikstof bepaald, die in niet-coaguleerbare splitsingsproducten van het eiwitmolecule aanwezig bleek te zijn; verder werd dan nog de toename van de door magnesia uitdrijfbare ammoniak vastgesteld. Doch nadat EMIL FISCHER zijn nieuwe inzichten en methoden over de eiwitchemie had gepubliceerd, is men er in geslaagd bij de autolyse een groot aantal lichamen aan te toonen, welke ook ontstaan, als eiwitten door koken met zuren hydrolytisch worden gesplitst.

Zoo heeft men dan kunnen isoleeren de volgende aminozuren:

glycocol (amino-azijnzuur);
 alanine (α amino-propionzuur);
 amino-valeriaanzuur;
 leucine (amino-capronzuur);
 asparaginezuur (amino-barnsteenzuur);
 glutaminezuur (α amino- n. glutaarzuur);
 phenylalanine (phenyl α amino-propionzuur);
 tyrosine (p oxyphenyl α amino-propionzuur);
 tryptophaan (skatol α amino-azijnzuur);

de volgende hexonbasen:

lysine (α ϵ diamino n. capronzuur);
 arginine (guanidine- α -amino-n. valeriaanzuur);

dan nog:

skatosine;
 als afkomstig van nucleoproteïden;
 nucleïnezuur;

uracil (dioxypyrimidine);
 thymine (methyldioxypyrimidine);
 adenine (amino-purine);
 guanine (amino-oxypurine);
 hypoxanthine (oxypurine);
 xanthine (dioxypurine);
 phosphorzuur.

Opvallend is, dat de hoogere splitsingsproducten der eiwitten, zooals albumosen en peptonen, niet of slechts in geringe hoeveelheden worden aangetroffen; klaarblijkelijk worden deze lichamen na hun vorming direct verder ontleed. Over het arginine, een constant splitsingsproduct van alle tot nu toe bekende eiwitten¹⁾ valt op te merken, dat het niet steeds wordt gevonden, wat moet worden toegeschreven aan de werkingen van een bijzonder ferment: de arginase, die de arginine na haar vorming onmiddellijk verder afbreekt.

De fermenten, die bij de autolyse van organen een rol spelen, kunnen dus, voor zoover zij eiwit splitsen, in het schema van HOPPE SEYLER²⁾ ondergebracht worden in de groep der hydrolytische fermenten.

Een andere groep lichamen, namelijk de vetten en de lipoïede stoffen, ondergaan evenzeer autolyse. WALDVOGEL vond, dat in een aan autolyse overgelaten lever lecithine, protagon en jecorine eerst toenamen, om daarna af te nemen, ten slotte te verdwijnen; middelerwijl namen dan vetzuren, neutrale vetten en cholesterine in hoeveelheid toe.

De diastatische fermenten, die in allerlei weefsels voorkomen, splitsen het glycogeen in verschillende suikers,

¹⁾ COHNHEIM. *Chemie der Eiweiskörper* 2e Aufl. 28, 1904.

²⁾ PFLÜGER's Archiv. 12, 1, 47 en 293, 1876.

al naar de fermenten, die daarbij werkzaam zijn; dit heeft ook bij autolyse plaats. (SALKOWSKI l. c.).

MAGNUS LEVI¹⁾ heeft opmerkzaam gemaakt op het optreden van organische zuren bij de leverautolyse; hij acht deze (o.a. melkzuur, boterzuur en barnsteen zuur) voor het grootste deel ontstaan uit koolhydraten, die in de lever in groote hoeveelheid aanwezig kunnen zijn, voor een kleiner deel uit eiwitten, wat het melkzuur betreft uit de alaninegroep.

Dan moet nog gewezen worden op een lebachtig ferment, dat bij autolyse in werking treedt en in vivo een rol zou spelen bij de coagulatieneecrose. (CONRADI²⁾, NÜRNBERG³⁾).

Verschillende factoren oefenen invloed uit op het proces der autolyse. De meeste onderzoekers hebben het verloop in de broedstoof bij 37°—40° bestudeerd; het proces vindt echter eveneens, zij het dan ook langzamer, bij lager temperatuur plaats; zoo kreeg WALDVOGEL, die zijn flesschen in de ijskast bewaarde, een positief resultaat. De invloed der temperatuur boven 40° is niet onderzocht; wel is bekend, dat bij $\pm 70^{\circ}\text{C}$. de werkzaamheid der autolytische fermenten ophoudt.

Veel verschil van meening heerscht er over den invloed van de reactie op de autolyse. Het is bekend, dat fermenten in 't algemeen het best werken bij zwakzure reactie, waarbij de sterker geïoniseerde anorganische zuren een intensievere werking plegen te vertoonen dan de organische, en dat tryptische fermenten beter werken in alkalisch milieu.⁴⁾

¹⁾ HOFMEISTER'S Beitr. 2, 201, 1902.

²⁾ HOFMEISTER'S Beitr. 1, 136, 1902.

³⁾ HOFMEISTER'S Beitr. 4, 543, 1903.

⁴⁾ OPPENHEIMER. Die Fermente u. ihre Wirkungen, 2e Aufl. 38, 1903.

SCHWIENING ¹⁾ vond, dat de autolyse geremd wordt door alkalische reactie. Tot deze conclusie kwamen ook HEDIN ²⁾, HEDIN en ROWLAND ³⁾ en WIENER ⁴⁾, die tevens de autolyse sneller zagen verlopen bij zure reactie. BAER en LOEB ⁵⁾ kwamen tot de slotsom, dat sterke alkalische reactie de autolyse doet stilstaan, dat echter zwak alkalische of zwak zure reactie haar bevordert. ARINKIN ⁶⁾ vond slechts in den beginne een bevordering door zure reactie; het latere verloop van het proces bleek bij beide reacties gelijk te zijn. VON DRJEWESZKI ⁷⁾ was tot dezelfde conclusie gekomen, dat sterke alkalische of zure reactie de fermenten bij de autolyse schaadt.

HEDIN ⁸⁾ vond, dat organen, die voorbehandeld werden met 0,2 % acid. acet., daarna ook in alkalisch milieu goede autolyse vertoonden, terwijl voorbehandeling met alkali evenals toevoeging van alkali tijdens de autolyse het proces remde. Voor de milt heeft hij dit verschijnsel in 't bijzonder bestudeerd en geeft de volgende hypothese: in de milt bevindt zich een anti-lichaam, dat zich met het proteolytisch ferment (α -lienase) verbindt en dit daardoor onwerkzaam maakt. Verdund azijnzuur doet deze verbinding uiteenvallen, en veroorzaakt zoodoende de verhoogde autolyse. Dit anti-lichaam zou ook in 't bloedserum voorkomen, echter niet identiek zijn met antitrypsine.

¹⁾ VIRCHOW's Archiv 136, 444, 1894.

²⁾ MALY's Jahresberichte der Tierchemie 1906, 853.

³⁾ HOPPE SEYLER's Zschr. 32, 341 en 351, 1901.

⁴⁾ MALY's Jahresberichte der Tierchemie 1905, 900.

⁵⁾ SCHIEDEBERG's Archiv 53, 14, 1905.

⁶⁾ HOPPE SEYLER's Zschr. 53, 1907.

⁷⁾ Bioch. Zschr. 1, 229, 1906.

⁸⁾ MALY's Jahresberichte der Tierchemie 1906, 853.

Het behoeft geen verwondering te wekken, dat men bij de autolyse aan de orgaanbrij verschillende stoffen heeft toegevoegd, van welke bekend was, dat zij op het levend organisme een sterken invloed uitoefenen, teneinde hierdoor een inzicht te krijgen in het mechanisme dier werkingen.

Uitgaande van het feit, dat cadavers van met arsenicum vergiftigde dieren weinig veranderen, spotten HESS en SAXL¹⁾ in organen ac. arsenicosum in en vonden, dat deze organen, na plaatsing in de broedstoof zeer goed geconserveerd bleven. Daarna voegden zij aan leverbrij *cacodylas natricus* en atoxyl toe en zagen in den eersten tijd een remming der autolyse, terwijl later het proces normaal verliep. Daar trypsine, erepsine en pepsine door deze lichamen niet worden beïnvloed, dachten schrijvers aan een specifieke remming. Hydrochl. chinini, dat o.a. pepsinewerking sterk bevordert, gedroeg zich als de arsenicum-verbindingen. De uit deze feiten getrokken conclusies over de eiwit-sparende werking en den remmenden invloed op den groei van tumoren blijven voor rekening van de schrijvers.

Onlangs heeft GUIDO ISAR²⁾ den invloed van verschillende anorganische arsenicumverbindingen nagegaan en is tot resultaten gekomen, die eenigszins afwijken van bovenvermelde. Hij vond n.l. dat de verschillende arsenicumzouten in kleine doses de autolyse bespoedigen, dat groote doses haar remmen. Hij zegt, dat HESS en SAXL (l.c.) te groote hoeveelheden arsenicum hebben

¹⁾ Zentrbl. f. inn. Med. 1908, 51.

²⁾ Biochem. Zschr. 21, 46, 1909.

toegevoegd. Van de eiwitsparende werking enz., van genoemde schrijvers blijft dan niet veel over.

Zeer veel is geschreven over den invloed van phosphor. In waterige suspensie toegevoegd aan orgaanbrij bevordert het de autolyse. (PORGES u. PRIBRAM ¹⁾).

De levers van met phosphorus vergiftigde honden vertoonen sterkere autolyse dan die van normale honden. JACOBY ²⁾ had deze proef genomen naar aanleiding van een opmerking van SALKOWSKI, dat bij de acute gele leveratrophie dezelfde producten (leucine en tyrosine) in bloed en urine worden gevonden die ontstaan bij leverautolyse, en verder omdat èn klinisch èn anatomisch acute gele leveratrophie en phosphorusvergiftiging zoo veel op elkaar gelijken.

BELLAZZI ³⁾ die door porties kalfsleverbrij, welke hij liet autolyseeren, koolzuur, zuurstof en lucht voerde gedurende 72 uur, vond dat, bij doorstrooming met koolzuur de autolyse duidelijk toenam. Hij zegt hierin een analagon met de verhoogde stofwisseling bij asphyctische toestanden te zien.

Een ander eigenaardig verschijnsel heeft CHIARI ⁴⁾ gevonden. Terwijl de autolyse in een normale konijnenlever eerst na c. 6 uur en dan langzaam begint, is het voldoende om deze gedurende 2 uur in aetherdamp te laten verblijven om dit proces reeds na 3 uur en dan snel te zien verloop. De verklaring moet volgens HANS MEYER ⁵⁾ hierin worden gezocht, dat de lipoïede

¹⁾ SCHMIEDEBERG's Archiv 59, 20, 1908.

²⁾ HOPPE SEYLER's Zschr. 30, 174, 1900.

³⁾ HOPPE SEYLER's Zschr. 57, 389, 1908.

⁴⁾ SCHMIEDEBERG's Archiv 60, 256, 1909.

⁵⁾ Münch. m. W. 1909, 1577.

membranen in de cellen dan niet langer verhinderen, dat fermenten en hun substraten met elkaar in aanraking komen.

Merkwaardig is ongetwijfeld ook, dat colloïdale oplossingen van metalen (goud, zilver en platina) en hunne zouten de autolyse versnellen, en wel des te meer, naar mate er meer wordt toegevoegd, tot een maximum, waarboven van een versnelling niets meer valt te bemerken.

Wanneer nu deze oplossingen vergiftigd worden door cyaanwaterstof, kwikcyanide, arsenicum-verbindingen e. d. dan valt de versnellende werking weg. De invloed van deze vergiften is een tijdelijke; het herstel van de vergiftiging geschiedt zeer langzaam. (ASCOLI en IZAR ¹⁾ ²⁾).

Dat toevoeging van bloedserum remmend werkt op de autolyse komt later nog ter sprake.

De invloed van radio-actieve stoffen is onderzocht door LÖWENTHAL en EDELSTEIN ³⁾, die verschillende weefsels (kalfslever, longen, carcinoomweefsel enz.) lieten autolyseeren met water, dat radiumemanatie bevatte; in controleproeven was door schudden met lucht het water geïnactiveerd. Schrijvers vonden een stijging der autolyse, afhankelijk van den duur der inwerking en van den aard van het geautolyseerde substraat.

De invloed van Röntgenstralen is, voor zoover ik kan nagaan, niet onderzocht. Over de werking op zuivere ferment oplossingen loopen de meeningen uiteen; de

¹⁾ Berl. kl. W. 1907, 96.

²⁾ Bioch. Zschr. 7, 142, 1907.

³⁾ Bioch. Zschr. 14, 484, 1908.

een vond een vermeerdering, de ander niet. (RICHTER u. GERHARTZ ¹⁾). Van den electrischen stroom valt hetzelfde te zeggen ²⁾ (KUDO).

JACOBY, die zich zoo verdienstelijk heeft gemaakt bij de bestudeering van de hier behandelde verschijnselen, heeft getracht het werkzame agens te isoleeren ³⁾. Een leverbrei, die gedurende 14 dagen was geautolyseerd, werd gefiltreerd, daarna het filtraat verzadigd met ammoniumsulfaat; er ontstond toen een rijkelijk praecipitaat, dat, na affiltreeren, opgelost in water, verterend bleek te werken op leverbrei. Hierbij bleek tevens, dat het ferment eerst neerslaat bij totale verzadiging.

Er zijn nog wel andere isolatiepogingen gedaan o.a. door ROSSELL ⁴⁾. Het is evenwel tot nu toe niet gelukt een zuivere fermentoplossing uit een autolysebrei te bereiden, evenmin als het tot nu toe gelukt is eenig ander ferment zuiver af te scheiden.

Aangaande den aard van het „autolytisch ferment” valt het volgende te zeggen:

Het behoort te worden thuis gebracht onder de groep der trypsinen (SALKOWSKI ⁵⁾, COHNHEIM ⁶⁾) aangezien het de eiwitten splitst in betrekkelijk eenvoudige stoffen, op dezelfde wijze als de trypsine dit doet.

NEUMEISTER ⁷⁾ heeft het bestaan der endocellulaire fermenten bestreden en gezegd, dat deze van uit den darm werden geresorbeerd en dus het autolytische

¹⁾ Berl. kl. W. 1908, 646.

²⁾ Bioch. Zschr. 16, 233, 1909.

³⁾ HOPPE SEYLER'S Zschr. 30, 165, 1900.

⁴⁾ cf. LAUNOIS l.c.

⁵⁾ Deutsche Klinik, 11, 156, 1904.

⁶⁾ Die Fermente etc. 142.

⁷⁾ Lehrbuch d. physiol. Chemie 322, 1903.

ferment identiek zoude zijn met de trypsine van het pancreas afkomstig.

Tegen het eerste deel van deze bewering heeft MATTHES¹⁾ aangevoerd, dat de levers van honden, bij wie hij enkele dagen te voren het pancreas had gextirpeerd, onverzwakte autolyse vertoonden.

Tegen het tweede deel n.l. de identiteit van beide fermenten pleit, dat er bij autolyse slechts sporen albumosen en geen peptonen worden gevormd, bij trypsinewerking daarentegen rijkelijke hoeveelheden van deze stoffen ontstaan (SCHWIENING²⁾, BIONDI³⁾). Van meer gewicht in dezen schijnt ons het feit, dat autolyse het best plaats vindt bij neutrale of zure reactie en door alkalische reactie geremd wordt, welke juist een optimum vormt voor trypsinewerking. Hierbij is nog te voegen, dat door EMIL FISCHER, ABDERHALDEN⁴⁾ e. a. is aangetoond, dat sommige polypeptiden wel worden gesplitst door perssap van organen, die niet door trypsine worden aangetast. Verder vonden NEUBERG en MILCHNER⁵⁾, dat er bij autolyse vrije pentosen ontstaan, wat bij trypsinewerking niet plaats vindt.

Dat bij autolyse geen tryptophaanreactie zou optreden, zooals BIONDI (l. c.) heeft beweerd, welke men wel bij trypsinewerkingen kan aantoonen, is volgens JACOBY onjuist; deze reactie treedt n.l. na autolyse gedurende 14 dagen wel degelijk op⁶⁾.

1) SCHMIEDEBERG's Archiv 51, 442, 1903—4.

2) VIRCHOW's Archiv 136, 444, 1896.

3) VIRCHOW's Archiv 144, 314, 1896.

4) HOPPE SEYLER's Zschr., 46, 52 en 47, 159 en 466, 1905—6.

5) Berl. kl. W. 1904, 1081.

6) HOPPE SEYLER's Zschr., 30, 149, 1900.

Het boven vermelde heeft natuurlijk alleen betrekking op de proteolyse; het schijnt ons niet juist ook de andere verschijnselen als lipolyse en glycolyse aan hetzelfde fermentcomplex toe te schrijven, zoodat het beter is te spreken van autolytische fermenten. Intusschen we hebben bij de endocellulaire fermenten te doen met zeer samengestelde verhoudingen, wat o.a. ook wel blijkt uit proeven van KÜNZEL en SCHITTENHELM¹⁾, die vonden, dat de verschillende fermenten der nucleïnestofwisseling elkaar remmen.

Nog op een andere eigenaardigheid heeft JACOBY²⁾ gewezen en wel op de specificiteit bij autolyse; perssap uit een verse lever werkt b.v. weinig op longweefsel. Dit zou verklaard worden door aan te nemen, dat het orgaaneiwit slechts door het orgaanferment kan worden afgebroken; zoodra echter het specifieke complex is uiteengevallen, wanneer zich albumosen en peptonen hebben gevormd, dan hebben de andere fermenten vrij spel. HESS en SAXL³⁾ lieten organen afzonderlijk en gezamenlijk autolyseeren en zagen daarbij, dat de hoeveelheid stikstof, die in oplossing gaat, wanneer men 2 verschillende organen samen laat autolyseeren, kleiner is, dan die welke ontstaat wanneer men deze 2 afzonderlijk dit proces laat ondergaan. Hieruit zou men op moeten maken, dat de verschillende organen elkaar remmen. Zoo geeft carcinoomweefsel aan een orgaanbrei toegevoegd, geen vermeerdering der autolyse van die brij, hoewel carcinoomweefsel zelve sterke autolyse vertoont.

¹⁾ Zschr. f. exp. Therap. u. Path. 1908, 5.

²⁾ HOFMEISTER's Beitr. 3, 446, 1903.

³⁾ Wiener kl. W. 1908, 33.

De verschillende onderzoekers hebben zich reeds van den beginne af de vraag voorgelegd of tijdens het leven autolyse bestaat; het meerendeel heeft hierop bevestigend geantwoord, en de volgende proeven als bewijzend aangevoerd:

In de lever van een hond, die eenige uren was blijven leven, nadat de art. hepatica en de vena portae waren onderbonden, vond JACOBV ¹⁾ leucine en tyrosine.

Om een leverkwab van een hond werd een ligatuur gelegd; in het onderbonden stuk werd na eenigen tijd leucine en tyrosine aangetoond, welke lichamen ontbraken in de rest van het leverweefsel ¹⁾.

Dan nog wordt gewezen op de vondst van SALOMON (l.c.), die hypoxanthine in veneus lijkenbloed aantoonde, welke stof tijdens het leven in veneus bloed ontbreekt. Hij gaf hiervan dezelfde verklaring als JACOBV van zijn eigen proeven, welke we hierboven vermeldde, dat n.l. tijdens het leven de bloedstroom telkens de door de cellen gevormde afbrekingsproducten wegvoert, zoodat deze op een bepaald oogenblik, als een versch orgaan wordt onderzocht, niet kunnen worden aangetoond.

Boven werden de proeven van ASCOLI en ISAR ²⁾ genoemd; wanneer zij colloïdale metaaloplossingen bij zich zelve en bij patienten inspoten, bleek na enkele uren de stikstofuitscheiding sterk te stijgen, na zekeren tijd, een maximum te bereiken en daarna langzaam tot de norm te dalen; omdat de meer uitgescheiden stikstof, in den vorm van ureum- en urinezuur aanwezig is, zoo vermoeden deze onderzoekers een aanzetten van de

¹⁾ HOPPE SEYLER's Zschr. 30, 170, 1900.

²⁾ Biochem. Zschr. 5, 394, 1907.

nucleïne-stofwisseling. Daar deze uitkomsten overeenkomen met die, welke verkregen werden door toevoeging van colloïdale metaaloplossingen aan orgaanbrei, zou men dus ook hieruit een argument kunnen putten voor de stelling, dat autolyse tijdens het leven plaats vindt.

Het is in 't oog vallend, dat de formuleering van de vraag een onjuiste is, als men tenminste de definitie van SALKOWSKI aanvaardt. De bedoeling is natuurlijk te weten of de fermenten, welke bij autolyse werken, ook tijdens het leven werkzaam zijn en dan het eiwitmolecule op dezelfde wijze splitsen als we dit bij de autolyse zien.

Op deze vraag is geen bevestigend antwoord te geven, zolang niet de chemische samenstelling van het versche orgaan op verschillende oogenblikken kan worden vastgesteld. Het is echter moeilijk aan te nemen, dat de endocellulaire fermenten tijdens het leven geen rol zouden spelen.

Heeft de bestudeering der autolyse praktisch belang? Hierop heeft SCHMIDT-NIELSEN¹⁾ bevestigend geantwoord. Het zg. rijpen der haringen wordt door dezen onderzoeker als een autolytisch proces gekenschetst. Het bleek, dat het spierweefsel zoowel als het neutrale vet, worden omgezet en dat bij dit proces de conserveermiddelen geen rol spelen. De vette visschen alleen vertoonen het verschijnsel; het ontbreekt bij magere individuen.

Eveneens praktisch nut heeft de studie van VOGEL²⁾ over vleeschsap (Muskelsaft). Het blijkt onmogelijk uit versche nog gecontraheerde spieren veel vocht te persen; na een dag of langer vormt zich een groote hoeveelheid

¹⁾ HOFMEISTER's Beitr. 3, 266, 1902.

²⁾ Deut. Arch. f. klin. Med. 72, 291, 1902.

vocht tot een zeker maximum en onafhankelijk van bacteriewerking. Bij dit proces ontstaan de extractiestoffen, die het vleesch zijn smaak verleen.

Ook in pathologische producten kan autolyse optreden. UMBER ¹⁾ liet versch afgetapte exsudaten autolyse ondergaan en kreeg een positief resultaat, terwijl SCHÜTZ ²⁾ negatieve resultaten publiceerde; echter blijkt deze laatste transsudaten te hebben onderzocht, die uit den aard der zaak celarm zijn in tegenstelling met exsudaten. Latere onderzoekers als EPPINGER ³⁾ en ZAK ⁴⁾ hebben zich geschaard aan de zijde van UMBER, hoewel zij ook in sommige gevallen om onverklaarbare reden autolyse zagen ontbreken. Uit al deze onderzoeken is gebleken, dat de bij de autolyse werkzame fermenten aan de cellen zijn gebonden, en dat in exsudaten de omvang van het postmortale eiwitverval evenredig is met hun celrijkdom.

WANNER ⁵⁾, die sputa aan autolyse onderwierp, zag vooral bij sterk etterhoudende sputa proteolyse; er traden diaminozuren en vooral ammoniak op. Als oorzaak gaf hij de werking van de bij het afsterven der leucocyten vrijkomende enzymen.

FR. MÜLLER ⁶⁾ heeft er op gewezen, dat bij de oplossing van het exsudaat van croupeuze pneumonieën autolytische verschijnselen een rol spelen. Stukjes gehepatiseerd longweefsel lossen bijna geheel op, onder

¹⁾ Berl. kl. W. 1903, 185.

²⁾ Zentrbl. f. inn. Med. 1902, 1161.

³⁾ Zschr. f. Heilk. 25, 378, 1904.

⁴⁾ Wiener kl. W. 1905, 576.

⁵⁾ Deut. Arch. f. kl. Med. 75, 347, 1903.

⁶⁾ Verh. Kongr. f. inn. Med. 1902, 192.

vorming van purinebasen, aminolichamen, zuren, etc. Dezelfde schrijver wijst evenals vele anderen ¹⁾ op den sterken fermentrijkdom van pus, en laat bij allerlei verschijnselen, waarbij resorptie van dood weefsel plaats vindt, de fermenten der polynucleaire leucocyten een rol spelen. Het is wel duidelijk, dat de heterolyse hier een grootere rol speelt dan de autolyse, tenzij men wil spreken van een autolyse van het fibrineuze exsudaat, dat zijn fermentgehalte dan, evenals in 't gestolde bloed, ontleent aan te gronde gegane leucocyten.

Sedert PETRI ²⁾ van een mammacarcinoom krachtige autolyse aantoonde, in sterk contrast met het weefsel vlak er omheen, heeft men gepoogd langs dezen weg iets naders van de maligne tumoren te weten te komen. De autolyse verloopt in een carcinoom sneller dan in de lever (BLUMENTHAL en WOLFF ³⁾); deze grootere snelheid is in overeenstemming met den grooten rijkdom aan jonge krachtige cellen (HESS en SAXL ⁴⁾). Waar verder is gebleken, dat ook het carcinoomweefsel specificiteit vertoont in zijn fermenten ⁴⁾, daar blijkt, dat het zich ten opzichte van de autolyse gedraagt als normaal weefsel. Een verderen steun voor deze meening gaven onlangs ABDERHALDEN en RONA ⁵⁾, die vonden, dat perssap van carcinomen, dat geen biureetreactie meer vertoonde, een dipeptide, het glycyl—l—tyrosine, op dezelfde wijze en in denzelfden omvang splitste, als normaal weefsel. De celrijkere tumoren, de adeno-

¹⁾ Wiener kl. W. 1906, 1249.

²⁾ HOPPE SEYLER'S Zschr. 27, 398, 1899.

³⁾ Deut. m. W. 1905, 7.

⁴⁾ Wiener kl. W. 1908, 33.

⁵⁾ HOPPE SEYLER'S Zschr. 60, 415, 1909.

carcinomen, vertoonden deze werking sterk, de scirrhi, welke grootendeels uit bindweefsel bestaan, zeer weinig.

NEUBERG ¹⁾ heeft gewezen op een kwalitatief verschil tusschen de autolyse van maligne tumoren (carcinoom-metastasen) en die van normaal weefsel; hij vond n.l. in de eersten na autolyse pentosen, welke hij afkomstig achtte van nucleoproteïden, welke bij het sterke kern-veral ontleed zouden werden.

Het schijnt ons echter niet onwaarschijnlijk, dat dit „kwalitatieve verschil” een kwantitatief verschil zal blijken te zijn; immers door den buitengewonen celrijkdom van sommige carcinomen worden er meer nucleoproteïden ontleed, en geschiedt dit levendiger (zie vroeger), zoodat er eerder aantoonbare hoeveelheden pentosen gevormd zullen worden, dan in normaal weefsel.

De overeenkomst, die er bestaat tusschen de acute gele leveratrofie en de phosphorusvergiftiging met de autolyse van de lever werd reeds vermeld. (SALKOWSKI. JACOBY.) Voor de pathologie belangrijk is de vraag of de vettige degeneratie van de lever en de aseptische autolyse van dit orgaan identieke processen zijn. WALDVOGEL ²⁾, WALDVOGEL en METTE ³⁾ staan deze meening voor en voeren als bewijs aan, dat er in beide gevallen dezelfde producten gevormd worden, nl. vet-zuren, cholesterine, neutrale vetten, tyrosine en leucine; verder, dat er jecorinen worden gevormd met hetzelfde gehalte aan phosphorus en stikstof (WALDVOGEL en TINTEMANN ⁴⁾). Ook microscopisch zouden in beide

¹⁾ Berl. kl. W. 1905, 118.

²⁾ VIRCHOW'S Archiv 177, 1, 1904.

³⁾ Münch m. W. 1906, 402.

⁴⁾ HOPPE SEYLER'S Zschr. 47, 129, 1906.

dezelfde beelden worden waargenomen, nl. het optreden van osmiumzuur reduceerende granula.

Nu is echter gebleken, dat er bij de experimenteele vettige degeneratie (vergiftiging met phosphorus), een toename van het gehalte aan vet plaats vindt. (SAXL ¹⁾, KAUFMANN ²⁾, ZIEGLER ³⁾), terwijl bij de autolyse van de lever er geen toename van de hoogere vetzuren of van de vetten is waargenomen. (SIEGERT ⁴⁾, SAXL ¹⁾).

Microscopisch is gebleken, dat de bij de autolyse in de cellen optredende granula wel osmiumzuur reduceeren, zich echter niet kleuren met vetkleurstoffen als Soedan 3, Scharlach R. e. d. (HESS en SAXL ⁵⁾). En in een nauwkeurig onderzoek van LAUNOY ⁶⁾, die kleine stukjes lever aseptisch liet autolyseeren, bleken er in het celprotoplasma myelinelichaampjes op te treden, afkomstig uit de kern en uit het protoplasma; welke granula, die wel osmiumzuur reduceeren, hij karakteristiek acht voor autolyse, en niet identiek met vetdruppeltjes.

Wat er dan plaats vindt bij de autolyse, is volgens SAXL ¹⁾, BIONDI ⁷⁾, e. a. het „zichtbaar worden” van het vet, door afsplitsing uit lipoproteïden, verbindingen van vetten met eiwit.

Vóór het bestaan van deze lipoproteïden pleit, dat eerst na vertering met pepsine, dat het eiwit-complex afbreekt, uit een orgaan alle vet kan worden geëxtraheerd

¹⁾ HOFMEISTER's Beitr. 10, 447, 1907.

²⁾ Lehrb. d. spec. path. Anatomie 553, 1907.

³⁾ Lehrb. d. allgem. Pathologie 212, 1905.

⁴⁾ HOFMEISTER's Beitr. 1, 114, 1902.

⁵⁾ Wiener kl. W. 1908, 486.

⁶⁾ Ann. de l'Inst. Pasteur, 23, 1, 1909.

⁷⁾ Wiener kl. W. 1908, 487.

(School van PFLÜGER¹⁾); dat er bij de autolyse eerst toename plaats vindt van lipoïeden (protagon, jecorine, lecithine) welke verbindingen tusschen de eiwitten en de vetten instaan, en die dan later verder worden gesplitst (WALDVOGEL l. c.). Dan nog, dat MANSFELD²⁾ vond, dat o. a. bij phosphorusvergiftiging het bloedvet zich voor een grooter deel met aether laat extraheeren, zonder dat het totale gehalte aan bloedvet toeneemt, terwijl COHNSTEIN en MICHAELIS²⁾ reeds vroeger hadden gevonden, dat chylusvet in de bloedbaan ingespoten of met bloed gemengd bij zuurstof aanwezigheid zoodanig veranderd wordt, dat het niet meer uitgetrokken kan worden met de gebruikelijke aether-extractie-methode. BIONDI (l. c.) heeft getracht, deze vraag experimenteel te beantwoorden en slaagde er in glycocoll en laurinezuur synthetisch tot lauryl-glycyl te binden, welk nieuw lichaam niet door fermenten, wèl door de autolyseerende lever gesplitst werd, terwijl het laurinezuur in de nieuwe binding een deel van zijn vetzuur-eigenschappen had verloren. Nu is een verbinding van een aminozuur met een vetzuur nog bij lange na geen lipoproteïd, doch mogelijk zal men langs dezen weg de kennis van deze reeks lichamen kunnen uitbreiden.

CONRADI³⁾ heeft gevonden, dat, wanneer men autolyse-vloeistoffen aan bacteriëncultures toevoegt, deze snel gedood worden; perssap van verse organen bezit die kracht weinig of niet. Hij vond verder, dat de hierbij werkzame stoffen geen fermenten zijn, van de eiwitten

¹⁾ Wiener kl. W. 1908, 486.

²⁾ PFLÜGER's Archiv 129, 46, 1909.

³⁾ HOFMEISTER's Beitr. I, 193, 1902.

afkomstig zijn, en tot de aromatische reeks behooren. In hoever men iets aan dit onderzoek heeft, valt niet te zeggen, daar een aantal van de bij de autolyse ontstaande producten als indol, skatol, e.d. bactericide zijn (SALKOWSKI¹⁾).

Hetzelfde valt er te zeggen van de antitoxinevorming bij de autolyse. BLUM²⁾ vond, dat de autolytische producten van runderlymphklieren tetanustoxine neutraliseerden. We hebben hier met zulke samengestelde mengsels te doen, dat het beter is voorloopig het oordeel op te schorten. Nog vonden WOLFF-EISNER en ROSENBAUM³⁾, dat de receptoren in de hersencellen bij autolyse vernietigd worden, en zoodoende een verbinding met het vergift wordt verhinderd.

LANDAU⁴⁾ vond bij miltautolyse in alkalisch milieu een bloedstelpend lichaam (stagnine); ABELOUS, SOULIÉ en TOUJAN⁵⁾ zagen, dat bij de autolyse van de bijnieren het adrenalinegehalte toeneemt.

Resumeerende kunnen we dus zeggen, dat men in de autolyse een methode bezit om een deel van de werkzaamheid der endocellulaire fermenten in vitro na te gaan. Het is gelukt een aantal eigenschappen van deze fermenten vast te stellen. Of hun afbrekende werking durante vita op dezelfde wijze geschiedt, ja of hun werkzaamheid wel eens plaats vindt, is niet bewezen. Het is echter onwaarschijnlijk, dat zij eerst na den dood van het

¹⁾ Berl. kl. W. 1875, 22.

²⁾ HOFMEISTER's Beitr. 5, 142, 1904.

³⁾ Berl. kl. W. 1906, 28.

⁴⁾ MALY's Jahresberichte der Tierchemie 1905, 900.

⁵⁾ MALY's Jahresberichte der Tierchemie 1906, 510.

individu een rol zouden gaan spelen; mogelijk doen zij dit bij aseptische necrose en resorptie van exsudaten op eene wijze, die in vele opzichten gelijkt op wat we bij de autolyse waarnemen.

Het is zeker voorbarig verregaande conclusies te trekken, waartoe sommigen geneigd zijn, die het mysterie van de endocellulaire stofwisseling reeds gedeeltelijk als opgelost schijnen te beschouwen. Want bij de stofwisseling in de cellen spelen de synthetische processen een even groote rol als de afbrekende, en over deze eerste beginnen we eerst langzamerhand iets te weten te komen.

CROFT HILL heeft aangetoond, dat een ferment, dat het uiteen vallen van een lichaam bespoedigt, tevens de synthese van datzelfde lichaam kan bevorderen, als men het slechts aan diens splitsingsproducten toevoegt. Hiermede is een geheel nieuw veld voor onderzoek geopend, waardoor misschien meer licht in het endocellulaire stofwisselingsproces gebracht zal kunnen worden. Men heeft de omkeerbare werking alleen voor maltase en lipase duidelijk kunnen aantonen, en is in de groep der koolhydraten, waar de verhoudingen reeds ingewikkelder zijn, nog niet veel verder gekomen. Bij de eiwitsplitsende fermenten heeft men deze omkeerbaarheid nog niet zeker kunnen vinden, wat samenhangt met de nog onbekende structuur der eiwitten en hunne hoogere splitsingsproducten, zoodat hierdoor de gevormde lichamen niet goed geïdentificeerd kunnen worden.¹⁾

¹⁾ Zie JACQUES LOEB. Vorlesungen über die Dynamik der Lebenserscheinungen 20—30. 1906.

HOOFDSTUK II.

AUTOLYSE VAN NORMAAL EN VAN LEUKAEMISCH BLOED. FIBRINOLYSE. DE FERMENTEN VAN WITTE EN VAN ROODE BLOEDLICHAAMPJES EN VAN PLASMA. ANTIFERMENTEN.

Autolyse van normaal bloed is nog niet uitvoerig bestudeerd; wèl 't verschijnsel opgemerkt n.l. door ERBEN¹⁾, die met ammoniumsulfaat albumosen kon uitzouten uit bloed, dat gedurende 3 dagen bij 50° C. had gestaan, en in een ander geval uit bloed, dat 25 dagen bij 37.6° C. bewaard was. Iets eerder verscheen er van PFEIFFER²⁾ een onderzoek, waarin hij aantoonde, dat normaal gedefibrineerd bloed en oxalaatbloed van rund en paard autolyse vertoont. Deze zelfde onderzoeker heeft ook nog autolyse nagegaan van leucocytotisch bloed, dat hij verkreeg door leucocytenbrij aan normaal bloed toe te voegen. Hij deed van het filtraat van 't bloed, dat onteiwit werd door verzadigen met zinksulfaat en toevoegen van zwavelzuur, stikstofbepalingen volgens de methode van KJELDAHL.

¹⁾ Münch m. W. 1906, 2567.

²⁾ Wiener kl. W. 1906, 1249.

PFEIFFER heeft deze proeven genomen om aan te toonen, dat er geen principieel verschil bestaat tusschen leucaemisch en leucocytotisch bloed (zie hieronder).

Nadat LUDWIG¹⁾ in leukaemisch lijkenbloed niet coaguleerbare eiwitten, welke hij voor peptonen hield, had aangetoond, is deze vondst herhaaldelijk bevestigd; men sprak echter van albumoseachtige lichamen, (MATTHES²⁾). Het viel ERBEN³⁾ op, dat in lymphaeisch bloed geen albumosen gevonden werden; hij kon er geen andere verklaring voor vinden, dan dat de lymphocyten geen proteolytisch ferment bevatten. Later toonde ERBEN⁴⁾ aan, dat in versch leukaemisch bloed sporen pepton voorkomen, welke zeer sterk toenemen bij autolyse. Hierna heeft SCHUMM⁵⁾ de bij myelogene leukaemie in het bloed optredende albumosen in 3 fracties weten te scheiden. Ook PFEIFFER (l. c.) toonde albumose-achtige lichamen aan in leukaemisch bloed. Het ligt voor de hand de oorzaak van deze veranderingen te zoeken in de polynucleaire leucocyten en myelocyten, die bij myelogene leukaemie in zoo grooten getale optreden; het bewijs voor deze veronderstelling werd langs geheel anderen weg geleverd.

MÜLLER en JOCHMANN⁶⁾ vonden, dat leucocyten het vermogen hebben om een Löffler'sche bloedserumplaat bij 50° te verteren. Druppeltjes van de leucocyten bevattende vloeistof veroorzaken dan het ontstaan van

¹⁾ Wiener kl. W. 1881.

²⁾ Berl. kl. W. 1894, 531.

³⁾ Zsch. f. kl. Med. 40, 282, 1900.

⁴⁾ Zschr. f. Heilk. 24, 70, 1903.

⁵⁾ HOFMEISTER'S Beitr. 4, 442, 1904.

⁶⁾ Münch. m. W. 1906, 1393.

kuiltjes in de plaat, die geleidelijk grooter worden. Het bleek hun, dat een brij van normale lymphklieren en dus overwegend lymphocyten bevattend, de plaat niet verteert, wèl daarentegen beenmerg, en dat dus het proteolytisch ferment gebonden is aan de leucocyten resp. de myelocyten. Bloed van lijders aan lymphatische leukaemie tastte de plaat niet aan, bloeddruppeltjes van patiënten met myelogene leukaemie wèl. Terwijl normaal bloed geen kuiltjes vormde, deden leucocyten uit normaal bloed, verkregen door centrifugeeren, dit wel degelijk.

Precies gelijk waren de resultaten van de proeven met pus; de pus van warme abcessen, die dus polynucleaire leucocyten bevat, verteert de plaat, tuberculeuze etter (menginfecties natuurlijk buitengesloten), laat de plaat intact.

Bij latere onderzoeken is gebleken, dat de polynucleaire leucocyten de dragers zijn van het proteolytische ferment, dat dit ferment echter slechts bij menschen, apen en in geringere mate ook bij honden voorkomt ¹⁾, en bij andere warmbloedigen ontbreekt. In dit feit ligt ook de verklaring waarom tuberculeuze etter en etter bij konijnen, die door de gewone pyogene microben ontstaan is, zooveel op elkaar gelijken. Er heeft door de fermenten geen afbraak plaats van de fibrine en andere eiwitten, zoodat de resorptie bemoeielijkt, zoo niet onmogelijk wordt. De salutare werking van jodoform-injecties in koude abcessen zou ook gelegen zijn in het binnendringen van polynucleaire leucocyten en dien ten gevolge fermentatief verteren van de eiwitten ²⁾.

¹⁾ Münch m. W. 1906, 2002.

²⁾ Münch m. W. 1906, 1507.

Onmiddellijk hiermee samenhangend is een reeds oude kwestie waarover veel werd geschreven, en die in den laatsten tijd eveneens is opgehelderd n.l. de fibrinolyse. Reeds in 1838 door DENIS opgemerkt werden later voor de fibrinolyse allerlei oorzaken aangegeven. PLOTZ ¹⁾ dacht, dat er bij het uitwasschen der fibrine met zoutoplossing een paraglobuline in oplossing zou gaan, dat het vermogen had fibrine op te lossen. HAMMARSTEN ²⁾ heeft vroeger een andere hypothese opgesteld, en wel dat de aanwezige lecithine ontleed zou worden in neurine, welk lichaam fibrine zou kunnen oplossen. DENIS en DE MARBAIX ³⁾ zochten veel later in het toegevoegde anti-septicum, vooral de chloroform, de oorzaak van de fibrinolyse. Het zou te ver voeren hun arbeid kritisch te bespreken; nu de kwestie tot klaarheid is gebracht, laten hun resultaten zich gemakkelijk verklaren met onze tegenwoordige opvattingen. Deze zelfde opmerking is te maken over de publicaties, o. a. van ARTHUS ⁴⁾ en DASTRE ⁵⁾, die evenzeer het milieu de oorzaak van de oplossing der fibrine dachten.

SALKOWSKI ⁶⁾ had reeds langen tijd een oorzaak gezocht in fermentwerkingen. HECTOR RULOT ⁷⁾ heeft echter door zijn onderzoek de zaak tot klaarheid weten te brengen. Hij ving paardenbloed op in een oplossing van keukenzout, zoodat er in 't geheel 4 0/0 NaCl. aanwezig was.

¹⁾ PFLÜGER'S Archiv 7, 371, 1878.

²⁾ PFLÜGER'S Archiv 30, 437, 1883.

³⁾ La Cellule 5, 197, 1889.

⁴⁾ Archives de Physiol. 1893, 392.

⁵⁾ Archives de Physiol. 1893, 661 en C. R. Acad. des Sciences 118, 959, 1894.

⁶⁾ Zschr. f. Biolog. N. F. 7, 92, 1889.

⁷⁾ Mém. Acad. Sc. Belg. 63, 7, 1903.

Na bezinken werd het plasma afgeheveld, gefiltreerd en verdund met $3 \times$ het vol. gedistilleerd water, waardoor fibrinogeen snel coaguleert. De gevormde fibrine werd uitgeperst en in zoutoplossing in de broedstoof geplaatst. Deze zuivere fibrine bleek geen autolyse te vertoonen, die pas optrad, zoodra er leucocyten werden toegevoegd. Werd het mengsel vooraf gekookt, dan bleef de autolyse eveneens uit. Men had vroeger aangenomen, dat door het koken de fibrine zóó veranderde, dat de zoutoplossing etc. haar niet meer konden ontleden.

Echter bleek er ook bij zorgvuldig gewasschen fibrine een geringe lysis op te treden.

Dat sterke zoutconcentraties beter fibrinolyse geven, werd nu verklaarbaar. De fibrine uit het geklopte bloed bevatte leucocyten, deze werden door de sterke zout-solutie vernietigd, en de vrijkomende fermenten konden de fibrine gaan verteren.

De leucocyten bevatten behalve proteolytisch ferment een diastatisch ferment, dat zetmeel om kan zetten in druivensuiker (TARCHETTI¹⁾) en volgens LÉPINE ook een glycolytisch ferment, dat verschillende suikers tot melk-zuur kan splitsen.

In de lymphocyten kon SALO BERGEL een lipolytisch ferment aantoonen ²⁾).

Bij den mensch is het proteolytisch ferment van de 8e embryonale maand af reeds aanwezig en wel in dezelfde hoeveelheid als later. (MÜLLER-JOCHMANN).

Het ligt voor de hand aan te nemen, dat de fermenten der leucocyten een belangrijke rol spelen bij autolyse

¹⁾ Münch m. W. 1900, 1390 (Ref.).

²⁾ Münch m. W. 1909, 64.

van bloed, doch het is de vraag of zij de uitsluitende fermentdragers in het bloed zijn.

ABDERHALDEN ¹⁾ heeft op deze vraag een gedeeltelijk antwoord gegeven; hij heeft een brij van bloedlichaampjes uit oxalaatbloed van een paard bereid door centrifugeeren, en porties hiervan na menging met kunstmatig bereide peptiden bij 37° in de broedstoof gezet: als antisepticum voegde hij toluol toe. Nu bleek, dat sommige peptiden gesplitst werden in hun componenten; vooral het glycyl l. tyrosine onderging deze splitsing gemakkelijk. Het splitsend vermogen verliezen chromocyten reeds vrij spoedig.

Ook de bloedplaatjes bezitten sterke peptolytische kracht, een argument voor ABDERHALDEN om deze vormsels te beschouwen als zelfstandige bloedelementen.

Ook het bloedserum bevat verschillende fermenten. WOHLGEMUT ²⁾ vond, alhoewel inconstant, diastatische werking. Maltase konden DUBOURY, BIAL e. a. in het bloedserum van verschillende dieren aantoonen. BANG ³⁾ bevestigde de aanwezigheid van chymosine, welke door FULD en SPIRO ⁴⁾ was aangetoond. Dan nog is door HANRIOT ⁵⁾ een bloedlipase beschreven, welker bestaan door ARTHUS echter is ontkend; dit lichaam zou een rol spelen bij diabetes mellitus.

Het bloedplasma bevat volgens ABDERHALDEN (l. c.) een peptolytisch ferment, dat in geringe mate polypeptiden kan splitsen, dipeptiden onaantast laat.

¹⁾ HOPPE SEYLER'S Zsch. 51, 334; 53, 251; 55, 377, 1907—8.

²⁾ Bioch. Zeitschr. 9, 1, 1908.

³⁾ HOFMEISTER'S Beitr. 5, 395, 1904.

⁴⁾ HOPPE SEYLER'S Zsch. 31, 132, 1900.

⁵⁾ Soc. Biol. 48, 925, 1896.

De bloedstolling is zoo als bekend evenzeer een fermentatief proces, terwijl verder in het bloed nog een katalase voorkomt.

Ten slotte komen in het bloedserum lichamen voor, die den naam antifermenten hebben gekregen, omdat ze de fermenten verhinderen hun werking uit te oefenen.

BAER¹⁾, die van de praemisse uitging, dat de bij autolyse werkzame fermenten ook tijdens 't leven werkzaam zijn, en waarnam, dat aan autolyse analoge verschijnselen durante vita dáar plaats vinden, waar de circulatie gestoord of opgeheven is, vermoedde in het bloed de oorzaak van het onwerkzaam worden dezer fermenten. Die remmende werking bleek het bloedserum uit te oefenen. Ten bewijze hiervan voegde BAER aan leverbrij versch bloed toe, en onteiwitte daarna, om ten slotte de opgeloste stikstof te bepalen. Het bleek, dat bij de leverbrij, die met serum gemengd was, er veel minder stikstof in oplossing gegaan was, dan bij de leverbrij zonder serum. BAER achtte deze werking een functie van het eiwitmolecule en wel omdat verdunnen en opkoken van 't serum, die remming niet deed verdwijnen er dus geen sprake van een anti-ferment kon zijn. Het serumalbumine bleek hem de fermentwerking sterk te verminderen, het serumglobuline te bevorderen, zich echter na verhitting als het eerste te gedragen. Doch BAER zegt toch nog andere oorzaken voor dit verschijnsel te moeten aanvoeren. Bij de remming wordt het ferment niet beschadigd, wat hieruit blijkt, dat men de autolyse zijn gewonen gang ziet gaan,

¹⁾ Congr. f. inn. Med. 1905, 221.

wanneer 4 dagen later het serum door centrifugeeren wordt verwijderd ¹⁾. Echter niet elke fermentwerking wordt verhinderd; de ammoniakafsplitsing blijft onbeïnvloed. Verder bleek het bloedserum bij phosphorusvergiftiging zijn remmend vermogen te hebben verloren.

EDUARD MÜLLER ²⁾ en zijn medewerkers hebben volgens hun eigen, boven reeds aangeduide methode, den remmenden invloed van het bloedserum nagegaan. Wisselende hoeveelheden bloedserum werden daarbij aan leucocyten suspensie toegevoegd en zoo ook kwantitatief de mate van remming (Hemmungstiter) vastgesteld. Hij wijst er op, dat de alkalische reactie en het zoutgehalte der vloeistoffen bij de antifermentwerking geen rol spelen, en zoekt de oorzaak in een thermolabiel eiwitachtig lichaam. Bij transsudaten bleek de remming evenredig te zijn met het eiwitgehalte, bij exsudaten, waarin vele leucocyten te gronde zijn gegaan, vond hij verminderde remming: het antiferment scheen hier door het vrijgekomen ferment op de een of andere wijze gebonden te zijn. Ook hij vermoedt, dat de aard van het aanwezige eiwit een zekere rol speelt.

MENS ³⁾ heeft evenals MÜLLER het antifermentgehalte van het bloed onder pathologische omstandigheden bestudeerd, is tot geen zekere resultaten gekomen. Er zou verband bestaan met leucocytose en bij acute infectieziekten met de opsonische kracht van het bloed.

¹⁾ SCHMIEDEBERG's Archiv 56, 68, 1907.

²⁾ Deut. Arch. f. klin. Med. 91, 291, 1907 (hier ook litt.)

³⁾ Deut. Arch. f. klin. Med. 91, 456, 1907 en Zentrbl. f. inn. Med. 1908, 773.

Echter niet alleen proteolytische fermenten worden geremd door bloedserum, ook andere fermenten ondergaan zijn invloed.

Dat trypsine door menschelijk bloedserum geremd wordt vond HAHN ¹⁾ reeds lang geleden. MARCUS ²⁾ bevestigde dit, terwijl GLAESNER ³⁾ een zekere specificiteit in de antitrypsinewerking opmerkte en wel in dier voege, dat de trypsine van een diersoort 't sterkst geremd wordt door zijn eigen bloedserum. De oorzaak van de remming beschouwt GLAESNER gebonden aan de euglobulinefractie van het bloed. Tijdens de digestie zou de antitryptische kracht dalen.

HAMMARSTEN en RÖDÉN ⁴⁾ toonden het eerst antilebferment in het bloed aan. Het werkzame bestanddeel is volgens FULD en SPIRO ⁵⁾ uit te zouten en gebonden aan de pseudoglobuline fractie. Het mechanisme zou als volgt zijn: de pseudoglobuline trekt de calciumzouten tot zich; hierdoor kan de paracaseïne zich niet uitscheiden en wordt de stolling dus verhinderd. Nog dient er op gewezen dat het VON DUNGERN ⁶⁾ en later MORGENROTH ⁷⁾ gelukt is door inspuiten van chymosine de antichymosine in het bloed te vermeerderen. Op grond hiervan is verband gezocht tusschen toxinen en fermenten. Voor deze hypothese worden nog wel meer gronden aangevoerd, doch het is voorloopig niet mogelijk,

¹⁾ Berl. kl. W. 1897, 23.

²⁾ Berl. kl. W. 1908, 689.

³⁾ HOFMEISTER's Beitr. 4, 79, 1904.

⁴⁾ MALY's Jahresberichte der Tierchemie, 1887, 160.

⁵⁾ HOPPE SEYLER's Zsch. 31, 132, 1900.

⁶⁾ Zentrbl. f. Bact. 26, 349, 1899.

⁷⁾ Zentralbl. f. Bact. 26, 349, 1899. (Ref.).

waar de fermenten nog niet geïsoleerde lichamen zijn, in deze zekerheid te verkrijgen.

De verhouding van de fermenten tot de antifermenten is nog in 't geheel niet opgelost. „Ganz unnötig ist es „jedenfalls und bringt nur unerwünschte Komplikationen „in die Fragestellung, wenn man den Fermentbegriff „über die in der Physiologie gezogenen Grenzen er- „weitert” (JACOBY ¹⁾).

¹⁾ Immunität u. Disposition 90, 1906.

HOOFDSTUK III.

METHODE. AUTOLYSE VAN GEDEFIBRINEERD BLOED.
FIBRINOLYSE. AUTOLYSE VAN SERUM. AUTOLYSE
VAN ROODE BLOEDLICHAAMPJES. PRODUCTEN
GEVORMD BIJ AUTOLYSE VAN BLOED. ONDER-
ZOEK NAAR DE WERKZAME FERMENTEN.
INVLOED VAN DE AUTOLYSE VAN
WITTE BLOEDLICHAAMPJES OP
DIE VAN ROODE.

Voor mijn proeven heb ik bijna uitsluitend gebruik gemaakt van paardenbloed, dat in het Gemeentelijk Abattoir alhier direct uit de vena jugularis werd opgevangen. In een vooraf goed gereinigde flesch werd het gedefibrineerd en onmiddellijk daarna naar het Pathologisch Laboratorium vervoerd, waar het zonder uitzondering binnen 24 uur, meestal echter reeds 4 à 5 uur na ontneming in bewerking werd genomen.

Eenige malen werd uit het bloed, zooals het gebruikt werd, in bouillon, op agar (als strijkcultuur) en in gelatine (als steekcultuur) geënt: nooit kwamen bacteriëncultures op.

In den beginne heb ik enkele malen gevonden, dat bij enting uit de flesschen na afloop der proeven zich wel bacteriën ontwikkelden; ik had dan telkens te maken met een *bacillus subtilis*, zooals bleek uit de volgende

kenmerken: het organisme was een snelbewegende staaf met middelstandige sporen, die zich gaarne twee aan twee bewoog en zich volgens GRAM kleurde, in bouillon als een dik geplooid vlies op de oppervlakte groeide, op agar groeide met hokjesvormende kammetjes en gelatine vervloeide.

Het gelukte niet de bacillen te vinden in met methyleenblauw gekleurde uitstrijkpraeparaten van den inhoud der flesschen; waarschijnlijk heb ik te doen gehad met sporen, die zooals bekend is, juist van deze soorten bijzonder goed hooge temperatuur verdragen en die zich niet in de autolysevloeistoffen hebben ontwikkeld, wèl echter op de voedingsbodems (bouillon, enz.); dit wordt nog waarschijnlijker, omdat ik met nieuwe flesschen heb gewerkt. Toch heb ik gemeend de geïnfecteerde flesschen, in een deel waarvan zich onregelmatigheden vertoonden, niet als bewijzende proeven te kunnen nemen. Evenwel vond ik in vele gevallen geen verschil tusschen de steriel gebleven en de geïnfecteerde flesschen.

De potten werden geplaatst in een broedstoof, waarin de temperatuur gewoonlijk 40.5° bedroeg, een enkele maal echter schommelde tusschen 39° en 41° C. Elken dag werden ze twee keer flink geschud.

Na eenige overwegingen werd toluol gekozen als anti-septicum. Dit lichaam is door EM. FISCHER sterk aanbevolen bij zijn studies over fermenten, en is door vele onderzoekers over autolyse gebruikt. Het chloroform, dat in de eerste plaats in aanmerking kwam, is ongeschikt, omdat het de bloedkleurstof verandert op een wijze, welke nog niet goed bekend is (KRÜGER¹⁾). Het toluol

¹⁾ HOFMEISTER's Beitr. 3, 67, 1903.

drijft boven en kan zoo de boven de vloeistof staande lucht kiemvrij maken, terwijl de vloeistof uit zichzelf kiemvrij blijft.

De flesschen werden evenals de maatpipetten, beker-glazen en het andere benoodigde glaswerk vóór het gebruik droog gesteriliseerd, de verdunningsvloeistoffen gekookt. De flesschen waren met een dubbele laag papier gesloten; bij het vullen werd eerst de bovenste laag verwijderd met een uitgegloeid pincet, en dan de pipet door de onderste gestoken.

Wanneer de te onderzoeken vloeistoffen lang genoeg in de broedstoof hadden gestaan, werden zij onteiwit, en werd daarna het stikstofgehalte van de in oplossing aanwezige, niet meer coaguleerbare verbindingen bepaald volgens de methode van KJELDAHL.

Ik stuitte al dadelijk op de moeilijkheid om de bloed-kleurstof uit de oplossing te verwijderen.

Zooals bekend is, valt haemoglobine uiteen, wanneer het in oplossing gedurende eenigen tijd op 54° verwarmd wordt; bij hooger temperatuur geschiedt deze ontleding veel sneller, en de kleur der contrôleproeven, die verhit werden tot 90° à 100° C., was dan ook steeds donkerbruin. Deze bruine kleur treedt gedurende de verhitting op een zeker oogenblik ineens op, klaarblijkelijk bij de temperatuur, waar het haemoglobine uiteenvalt.

De coagulatie van het bloed geschiedde door koken en bij kookhitte toevoegen van eenige druppels 6 % azijnzuur; er trad dan gewoonlijk onmiddellijk een grofvlakkig neerslag op, althans in het verse en in het geautolyseerde bloed; de contrôleproeven, die bij de voorafgaande verwarming reeds gedeeltelijk gestold waren, coaguleerden bij deze bewerking meestal in

zeer fijne vlokjes. Nooit sloeg de bloedkleurstof geheel neer; de filtraten liepen bijna steeds sterk bruin tot roodbruin door.

Daar het noodzakelijk was deze bloedkleurstof te verwijderen, werd naar een praecipitatiemiddel gezocht; nadat allerlei lichamen geprobeerd waren, werd ten slotte op raad van STEENSMA in het aceton een bruikbaar middel gevonden. Aan het door koking en toevoeging van azijnzuur gecoaguleerde bloed werd dus na afkoeling aceton toegevoegd; vervolgens werd gecolect of gefiltreerd. Het filtraat werd daarna met salpeterzuur onderzocht op de aanwezigheid van eiwit, en op bloedkleurstof met de door STEENSMA aangegeven spectroscopische methode¹⁾, die als volgt wordt uitgevoerd: Aan ongeveer 3 c.cM. vloeistof worden enkele druppels pyridine en daarna een of twee druppels zwavelammonium toegevoegd; bij aanwezigheid ook van sporen bloedkleurstof treedt het spectrum van haemochromogeen op: (een intensieve smalle streep bij D in 't geel en daarnaast een minder intensieve, doch bredere streep bij E in het groen).

Hierna werd de aceton afgedistilleerd, de vloeistof op het waterbad ingedampt, ten slotte nogmaals gefiltreerd, goed uitgewasschen en in een maatkolfje op een bepaald volumen gebracht.

Van de vloeistoffen werd nu volgens de methode van KJELDAHL het gehalte aan stikstof op de volgende wijze bepaald:

Bij 5—10 c.cM. vloeistof werd 10—15 c.cM. geconcentreerd zwavelzuur en 1 gr. kopersulfaat gevoegd;

¹⁾ Nederl. Tijdschr. v. Gen. 1908, 160.

het mengsel werd verhit en zoodra er zich dampen begonnen te ontwikkelen, voegde ik er 4 gram kaliumsulfaat bij; om het schuimen te voorkomen werd dan de vlam eerst zeer laag, daarna geleidelijk hooger gedraaid. Gemiddeld na een half uur werden de vloeistoffen helder groen; dan werd nog 10—15 minuten doorgekookt. Na afkoeling werd 50 c.c.M. gedistilleerd water toegevoegd en de geheele inhoud in een Erlenmeyer'sche kolf gespoeld; na toevoeging van een lepel talk werd 80 c.c.M. 30 % natronloog opgeschonken, snel de kurk erop gezet en de vlam aangestoken, terwijl de nu ontwijkende ammoniak in 50 c.c.M. zwavelzuur, van een titer ongeveer $\frac{1}{10}$ normaal, opgevangen werd; vooraf bepaalde ik nauwkeurig den titer van het gebruikte zuur.

Bij het titreeren van het gebonden zwavelzuur werd als indicator gebruik gemaakt van lacmoëd-malachiet-groen in alcoholische oplossing.

In de vloeistoffen werd tevens de biureetreactie gedaan, en gezien of er ook zilverneerslagen ontstonden, die in ammoniak onoplosbaar waren, met het oog op de eventueele aanwezigheid van purinelichamen.

Alvorens tot bewerking over te gaan werd de bacteriologische contrôle verricht. Uit de flesch werd een kleine hoeveelheid materie gevischt en deze op agar uitgestreken, in bouillon geënt en er een steekcultuur in gelatine van gemaakt. In een aantal gevallen werden eveneens uitstrijkpraeparaten van den inhoud gemaakt en deze met methyleenblauw gekleurd; hierbij kregen we nimmer een positief resultaat.

Het bloed werd bij de proeven verdund met gedistilleerd water, in de eerste plaats om haemolyse te krijgen, zoodat de fermenten vrij kwamen, maar ook om het

bloedserum, dat, zooals we reeds boven zagen, remmend werkt, te verdunnen; verder werd op deze wijze ook het protoplasma der witte bloedlichaampjes direct gedood.

De verdere bijzonderheden der methode worden nog bij de proeven afzonderlijk vermeld. Echter willen we nog erop wijzen, dat het coleeren geschiedde door oud linnen, dat de eiwitmassa daarna krachtig werd uitgeperst en tweemaal met acetonhoudend water nagewasschen en nogmaals uitgeperst. Wanneer er met gedistilleerd water wordt nagewasschen, gaat er weer bloedkleurstof in oplossing. Het is verder in den loop van dit onderzoek gebleken, dat bij het verwijderen der bloedkleurstof niet zoozeer de duur van de acetoninwerking van belang is, doch de hoeveelheid toegevoegde aceton (20—50 0/0). Het was natuurlijk van belang na te gaan of onze methode bruikbaar was en daarom werd de volgende proef gedaan:

Een versche runderlever werd ontdaan van de groote vaten en vervolgens tweemaal door een vleeschmachine gehaald. Er werden nu porties van 200 gram afgewogen, waaraan 800 c.c.M. gedistilleerd water benevens 20 c.c.M. chloroform werd toegevoegd. De eene helft dezer porties werd gekookt, de andere helft niet; daarna werden zij allen in de broedstoof geplaatst.

Bovendien werden nog 2 porties van de versche leverbrij, elk van 200 gr., met 400 c.c.M. gedistilleerd water gekookt en bij kookhitte 10 c.c.M. 6 0/0 azijnzuur toegevoegd.

Eén van deze porties (A) werd daarop met 100 c.c.M. gedistilleerd water en 280 c.c.M. aceton in een kolf gedaan en na enkele dagen gecoleerd; het neerslag werd uitgeknepen en met 250 c.c.M. van een 20 0/0 oplossing van aceton in gedistilleerd water nagewas-

schen; de aceton werd afgedistilleerd, de vloeistof ingedampt en op een volumen van 250 c.c.M. gebracht.

De andere portie (B) werd gecoleerd; het praecipitaat uitgeperst, nagewasschen met 200 c.c.M. gedistilleerd water, ingedampt en gebracht op een volume van 250 c.c.M. Beide vloeistoffen bleken nu eiwitvrij (ringproef) en gaven een negatieve biureetreactie.

Nadat stikstofbepalingen volgens de methode van KJELDAHL waren gedaan (van 5 c.c.M.), bleek de hoeveelheid stikstof in 250 c.c.M. vloeistof: (Zie Tabel I).

bij A (met aceton) 0.412 gram

bij B (zonder aceton) 0.444 „

De autolyse-flesschen werden gedurende 21 dagen in de broedstoof geplaatst bij 40.5° C. en elken dag twee maal geschud; na opening bleken alle flesschen steriel te zijn gebleven. De inhoud werd nu gecoleerd, de flesschen goed nagespoeld en het geheel op een volume van 1000 c.c.M. gebracht. Elke portie van 1000 c.c.M. werd in 2 gelijke helften verdeeld en nu beide gekookt; de eene reeks werd nu met aceton behandeld, de andere niet; de bewerking geschiedde verder zooals boven bij versche leverbrij vermeld werd.

Het bleek nu, dat de opgeloste stikstof in beide reeksen was: (Zie Tabel I).

No. 46 (niet verhit)	A ¹ (met aceton)	0.477 gram.
	B ¹ (zonder aceton)	0.503 „
No. 47 (niet verhit)	A ¹ (met aceton)	0.489 „
	B ¹ (zonder aceton)	0.563 „
No. 49 (gedurende 1 uur op 60° verhit)	A ¹ (met aceton)	0.411 „
	B ¹ (zonder aceton)	0.456 „
No. 48 (verhit tot 100° C)	A ¹ (met aceton)	0.372 „
	B ¹ (zonder aceton)	0.336 „

De verhitte (contrôle) portie geeft geheel afwijkende cijfers; dat de porties in de verschillende flesschen niet geheel gelijk zijn, is best mogelijk, daar de leverbrij nat gewogen is, en men dus steeds kleine fouten maakt, doch bij No. 48 geeft de acetonmethode de hoogste waarde; we laten de reden hiervoor in het midden.

Uit deze proeven is gebleken, dat de acetonmethode lager wijst dan de gewone. Daar dit verschil echter vrij constant is hebben we daarin geen bezwaar gezien haar voor ons onderzoek te gebruiken.

Nog een andere proef gaf dezelfde resultaten, waarbij ik 2 stukken lever in chloroformwater in de broedstoof had gezet, waarvan één tevoren gekookt was. Na autolyse van bijna 10 maanden was de vloeistof in de flesschen donkergeel geworden en de stukken lever aan bijna alle kanten geensureerd (behalve ter plaatse van de kapsel). De afgeschonken en gefiltreerde vloeistoffen bleken eiwitvrij te zijn. Van elk filtraat werden nu 2 porties van 50 c.cM. genomen en met 50 c.cM. aq. dist. verdund; bij de eene helft werd bovendien 50 c.cM. aceton gevoegd, en deze na 4 dagen in bewerking genomen.

Nadat alles op een volume van 100 c.cM. was gebracht, bleek het stikstofgehalte volgens KJELDAHL bepaald te zijn: (Zie Tabel II).

C (niet gekookt)	A ¹ (met aceton)	0.218 gram.
	B ¹ (zonder aceton)	0.249 „
D (gekookt)	A ¹ (met aceton)	0.130 „
	B ¹ (zonder aceton)	0.164 „

Deze waarden zijn slechts twee aan twee vergelijkbaar, daar de leverstukken niet gelijk in gewicht waren.

We kunnen dus zeggen, dat we met onze methode

lager waarden krijgen dan met de gebruikelijke; daar het er ons om te doen was na te gaan of er autolyse optreedt of niet, hadden wij ook niet noodig de absolute hoeveelheid stikstof, die in oplossing is gegaan, vast te stellen.

De eerste reeks proeven, die nu werd genomen, diende om te bepalen of er autolyse optreedt in gedefibrineerd paardenbloed.

In de verschillende proeven in deze reeks werden telkens 100 c.c.M. versch gedefibrineerd paardenbloed met een gelijk volume gedistilleerd water en 10 c.c.M. toluol in de flesschen gedaan; een deel was vooraf tot 90° C. verhit.

Bij een andere reeks werd physiologische zoutoplossing in plaats van gedistilleerd water genomen, om te zien of dit, althans in den eersten tijd, ook onderscheid maakte.

Na verschillende tijden werden er flesschen uit de broedstoof genomen en onderzocht. Eerst werd er uitgeënt in bouillon enz., dan de reactie bepaald. De inhoud der flesschen werd vervolgens met behulp van 175 c.c.M. gedistilleerd water in een porseleinen schaal gespoeld en de vloeistof onder voortdurend roeren tot koken verhit. Zoodra zij goed kookte, werd 10 c.c.M. 6% azijnzuur toegevoegd; ik zag dan gewoonlijk de stolling snel tot stand komen, waarna nog even doorgekookt werd. Na afkoeling werd vloeistof met coagula in een Erlenmeyer'sche kolf geschonken en 200 c.c.M. aceton toegevoegd. Na 24 uur werd in de eerste rij gefiltreerd, doch bij de volgende flesschen telkens gecoaleerd (omdat filtratie te lang duurde), het coagulum uitgeknepen, in den doek weer fijn gemaakt en met 120 c.c.M. water + 50 c.c.M. aceton uitgespoeld, dan nogmaals flink uitgeknepen; dit laatste procédé werd in zijn

geheel herhaald, de nu doorgelopen troebele vloeistof werd door een papieren filter gefiltreerd en dit met aq. dest. nagespoeld. De vloeistof was nu helder lichtgeel en bleek vrij te zijn van bloedkleurstof (spectroscopische reactie) en van eiwit (ringproef met salpeterzuur). Nu werd de aceton afgedistilleerd en de achtergebleven vloeistof op een waterbad ingedampt tot een klein volumen. Er ontstond bij de distillatie vrij geregeld een duidelijke opalescentie, klaarblijkelijk tengevolge van in aceton oplosbare, in water onoplosbare, verbindingen, die bij het verwijderen hiervan neersloegen. Zoo bleef er dan ook steeds bij indampen een in water niet oplosbaar residu, dat verwijderd werd door filtreren en zorgvuldig werd nagewasschen. De heldere doorgelopen vloeistof, donkerder van kleur geworden, werd in een maatkolfje gebracht op een volumen van 100 c.cM.

Van deze vloeistof werden daarna telkens twee bepalingen volgens KJELDAHL gedaan, elk van 5 c.cM.

De resultaten van deze reeks waren als volgt: (de getallen geven de hoeveelheid opgeloste stikstof aan in 100 c.cM. bloed aanwezig). (Zie Tabel III).

Duur der autolyse.	Niet verhit bloed. (met aq. dest. verdund)	Niet verhit bloed. (met NaCl. opl. verdund)	Tot 90° verhit bloed. (met aq. dest. verdund)
0 dagen	0.043 gram	—	—
13 "	0.057 "	0.058 gram	0.044 gram.
13 "	0.058 "	—	—
21 "	0.092 "	0.092 "	0.072 "
21 "	0.094 "	—	—
28 "	0.079 "	0.088 "	0.093 "
28 "	0.681 "	—	—
35 "	0.096 "	0.110 "	0.070 "
35 "	0.105 "	—	—

Ik heb nog een andere reeks proeven met versch gedefibrineerd paardenbloed genomen, waarin bij 100 c.cM. bloed 100 c.cM. gedistilleerd water werd gevoegd en 15 c.cM. toluol als antisepticum.

Na opening der flesschen werd 150 c.cM. water bijgevoegd, gecoaguleerd door koking en toevoeging van 10 c.cM. 6 % azijnzuur, en dan het geheel gedurende 24 uur onder 250 c.cM. aceton gezet.

De verdere bewerking was als boven werd geschetst; echter werden hier de vloeistoffen gebracht op een volumen van 50 c.cM. en voor de KJELDAHL-bepalingen telkens 10 c.cM. vloeistof gebruikt. De contrôle-proeven werden gedurende 1 uur in een thermostaat verhit op 60° C. (Zie Tabel IV).

Duur der autolyse.	Niet verhit bloed.	Tot 60° C. verhit bloed.
0 dagen	0.036 gram	—
8 "	0.059 "	0.057 gram
13 "	0.067 "	0.063 "
152 "	0.271 "	(mislukt)
162 "	0.236 "	0.239 gram

Voor een volgende serie werd gebruik gemaakt van versch gedefibrineerd *kalfs*bloed.

Telkens 100 c.cM. van dit bloed, werden gemengd met 225 c.cM. gedistilleerd water en 15 c.cM. toluol. Na opening der flesschen werd gemengd met 100 c.cM. water, na coaguleeren met 250 c.cM. aceton. Na 24 uur geschiedde de verdere bewerking; de vloeistoffen werden op een volumen van 100 c.cM. gebracht en KJELDAHL-bepalingen elk van 5 c.cM. gedaan.

Hierbij verkregen we de volgende resultaten: (Zie Tabel V en Fig. 1).

Duur der autolyse.	Niet verhit bloed.	Tot koken verhit bloed.
7 dagen	0.060 gram	—
17 „	0.064 „	0.053 gram
231 „	0.175 „	0.97 „

Zooals reeds in het eerste hoofdstuk werd opgemerkt, wordt de autolyse sterk bevorderd door zure reactie; we hebben dan ook 2 reeksen proeven beschikbaar, die dit aantonen. De eerste observatie dateert uit het begin van dit onderzoek, en dientengevolge is hierbij een eenigszins andere methode gevolgd.

Aan twee porties, elk van 200 c.c.M. versch gedefibreerd paardenbloed werden 550 c.c.M. gedistilleerd water toegevoegd en daarna 8 c.c.M. chloroform en een scheut toluol, alsmede 6.5 c.c.M. 6 0/0 azijnzuur; de reactie was dan duidelijk zuur. Bij de coagulatie werd nog 15 c.c.M. azijnzuur van 6 0/0 toegevoegd, en de geheele massa bleef met 200 c.c.M. aceton staan. Na de verdere bewerking, die geheel als later geschiedde, werd op een volumen van 250 c.c.M. gebracht en 3 KJELDAHL-bepalingen van elk gedaan. Er bleek na eenigen tijd per 200 c.c.M. bloed aanwezig: (Zie Tabel VII).

Duur der autolyse.	Niet verhit bloed.	Gekookt bloed.
67 dagen	0.277 gram	0.102 gram

Dezelfde proef werd ook gedaan met het gedefibrineerd kalfsbloed, waarvan reeds boven sprake was en waarvan de methode reeds werd beschreven. Alleen dient nog vermeld, dat aan elke flesch waarin zich 100 c.c.M. bloed en 225 c.c.M. water bevond, 5 c.c.M. 6 0/0 azijnzuur werd

gedaan. De per 100 c.cM. bloed aanwezige opgeloste stikstof was: (Zie Tabel VI).

Duur der autolyse.	Niet verhit bloed.	Gekookt bloed.
0 dagen	0.060 gram	—
17 „	0.107 „	0.047 gram
48 „	0.138 „	0.060 „

Uit de bovenstaande cijfers blijkt ten duidelijkste, dat er in gedefibrineerd bloed autolytische verschijnselen optreden: er gaat stikstof in oplossing.

We hebben hier alleen de duidelijke resultaten aangevoerd; eenige malen kregen we onregelmatigheden met name in de contrôles van de eerste reeks, (zie Tabel III op pag. 71) waar abnorm hooge stikstof-gehaltes werden gevonden. We dachten dit eerst te moeten toeschrijven aan het twee maal koken, waartegen de eiwit-moleculen niet bestand zouden zijn, doch we konden, door achter-eenvolgens bloed drie maal te koken zonder te roeren, geen toename krijgen van opgeloste niet-coaguleerbare stikstof. Het valt tevens op in de later mee te deelen cijfers, (zie Tabel V en IX) dat een enkele maal de aanwezige hoeveelheid stikstof eerst enkele milligrammen daalt om daarna weer te stijgen, doch waar de methode een zoo omslachtige is, zijn verliezen onvermijdelijk, zoodat we alleen onze conclusies hebben durven trekken uit een geheele reeks proeven, waar duidelijk de contrôles regelmatig minder stikstofhoudend zijn. Dat de autolyse van bloed door azijnzuur sterk wordt bevorderd, blijkt uit de medegedeelde cijfers voldoende. Ten slotte zij nog vermeld, dat de fermenten een verhitte tot 60° C. gedurende een uur verdragen.

Op een ander feit moeten we hier tevens wijzen. In de contrôles zien we, vooral waar ze lang hebben gestaan, (en we vestigen hier speciaal de aandacht op de 5^e tabel pag. 48), dat er klaarblijkelijk een belangrijke ontleding van het eiwit-molecule heeft plaats gevonden. Hoogstwaarschijnlijk hebben we hier te doen met een spontane ontleding, wat in overeenstemming is met de meer en meer veld winnende veronderstelling, dat het eiwit-molecule metastabiël is. Op deze wijze zouden we tevens de onregelmatigheden kunnen verklaren, die we reeds boven aanroerden, en die we voor 't beter overzicht in den tekst niet mededeelden. Doch tevens achten we het niet onwaarschijnlijk, dat ook bij onze autolyse-proeven deze factor mede in het spel is. Immers we zien, dat de oplossing van stikstof betrekkelijk geleidelijk gaat en eerst na zeer langen tijd belangrijk wordt (zie Tabel IV en V). Daar de autolyse in 't algemeen snel verloopt, moet men hier haast wel denken aan een langzaam ontledings-proces. ABDERHALDEN¹⁾ toch zegt: „Die Autolyse ist einem Uhrwerk vergleichbar, dessen „Feder entspannt wird, und dass nun plötzlich zum raschen „Ablauf kommt”.

Autolyse van het gestolde bloed is reeds waargenomen o.a. door DENYS en DE MARBAIX (l.c.) en door DASTRE (l.c.), bij hun studies over fibrinolyse (zie Hoofdstuk II). Deze onderzoekers hebben echter het verschijnsel, dat zij zich voornamelijk beperkt dachten tot de fibrine,

¹⁾ Lehrb. d. physiol. Chem. 2. Aufl. 360.

(hoewel de eersten ook wel vermoedden, dat de roode bloedlichaampjes ontleed werden) slechts kwalitatief na gegaan, door de gevormde albumosen en peptonen aan te toonen. „Les expériences sont de nature à établir que ce ne sont pas les albumines dissoutes dans le sang, qui subissent la peptonisation, mais les globules rouges ou la fibrine ou les deux ensemble”. (DENYS en DE MARBAIX l.c.)

Daar het met mijn methode echter niet mogelijk was het gestolde bloed kwantitatief te onderzoeken zonder toevoeging van vreemde stoffen b.v. oxalas ammonicus, waardoor ik natuurlijk onbruikbare resultaten zou krijgen, heb ik de verschillende bestanddeelen van het bloed zooveel mogelijk afzonderlijk onderzocht. Ik heb dan vooreerst versche fibrine laten autolyseeren. Door kloppen verkregen fibrine uit versch *runder* bloed werd eerst in stroomend water gewasschen, totdat het nauwelijks meer rood zag; dan werden de witte stukken eruit verzameld en in een flesch met chloroform water (5 c.cM. chloroform per L.), dat nu en dan ververscht werd, in een schudmachine gedurende vele uren flink geschud. Dit werd voortgezet, totdat in het laatste spoelwater, waarin de fibrine een nacht had gestaan, de biureetreactie negatief uitviel en in de vlokjes geen bloedkleurstof meer kon worden aangetoond. Om mij daarvan te overtuigen werd een vlokje fibrine op een objectglas gebracht, een paar druppels pyridine toegevoegd en een druppel zwavelammonium. Na menging met een roerstaaf, werd het objectglas onder het microscoop geplaatst en een spectroscop in plaats van het oculair genomen; bij deze wijze van werken, welke is aangegeven door STEENSMA, kan men in kleine partikels

minimale hoeveelheden bloedkleurstofaantoonen¹⁾. Boven dien werden een paar vlokjes fibrine zorgvuldig uitgeplozen op een objectglas, gefixeerd en gekleurd met LÖFFLER'sch methyleenblauw; het gelukte niet een enkele leucocyt te vinden. Wat er dus aan fermenten aanwezig was, moest door de fibrine zijn opgenomen, hetzij door adsorpsie, hetzij door binding. De fibrine werd nu uitgeperst tusschen filtreerpapier, daarna werden porties van 4 gr. afgewogen, welke met 100 c.cM. gedistilleerd water en 15 c.cM. toluol in flesschen werden gedaan; de eene helft werd verhit tot koken. Na eenigen tijd werden de flesschen geopend en bacteriologisch gecontroleerd; ze bleken alle steriel. De fibrine werd nu met 250 c.cM. water in een porseleinen schaal gespoeld, gekookt en 5 c.cM. azijnzuur van 6 0/0 toegevoegd; dan werd de massa gefiltreerd en ingedampt tot een volumen van 100 c.cM., en ten slotte werden KJELDAHL-bepalingen van 5 c.cM. vloeistof elk gedaan, met het resultaat, dat de volgende hoeveelheden stikstof van niet-coaguleerbare verbindingen afkomstig uit 4 gr. vochtige fibrine werden verkregen. (Zie Tabel VIII).

Duur der autolyse.	Niet verhitte fibrine.	Gekookte fibrine.
24 dagen	0.111 gram	0.029 gram
45 "	0.103 "	0.024 "

Het feit van fibrinolyse spreekt hier zeer sterk; dat er wat minder stikstof gevonden is in de na 45 dagen onderzochte portie laat zich ongedwongen hieruit verklaren, dat de fibrine vochtig werd gewogen, en er dus waarschijnlijk niet evenveel fibrine in elke flesch aanwezig geweest is. De verschillen tusschen de autolyse-

¹⁾ Pharmaceutisch Weekblad 1909.

flesschen en de contrôle-flesschen zijn echter zóó groot, dat de resultaten als bewijzend mogen worden beschouwd. In de autolyse-flesschen bleken verder groote hoeveelheden albumosen aanwezig, zooals bleek uit de volgende reacties:

1. Een kleine hoeveelheid van de te onderzoeken vloeistof werd aangezuurd met enkele druppels 6% azijnzuur; daarna werd een bijna gelijk volume verzadigde NaCl-oplossing toegevoegd, waarop een duidelijke troebeling ontstond. Toen dit mengsel daarop werd verwarmd, werd het weer helder, terwijl na afkoeling de troebeling weer terugkwam.

2. Bij eenige c.c.M. van de vloeistof werden enkele druppels salpeterzuur gevoegd; hierdoor ontstond een praecipitaat, dat bij zacht verwarmen weer oploste, terwijl het na afkoeling weer optrad. Werd echter flink verhit, dan kleurde de vloeistof zich geel, welke kleur na toevoegen van natronloog in oranje overging (xanthoproteïne-reactie).

3. Nadat bij een kleine hoeveelheid van de vloeistof eenige druppels 6% azijnzuur waren gevoegd en enkele c.c.M. ferrocyaanalkali-oplossing, ontstond er een duidelijke troebeling, die door verwarming verdween, en na afkoeling weer terugkwam.

4. In de vloeistof was de biureet-reactie zeer sterk. We konden met deze reacties geen albumosen in de contrôlepotten vinden; toch was er een zwakke biureet-reactie, en daar deze ontbrak, valt hier dus te denken aan een ontleding van het eiwitmolecule, op welk verschijnsel bij fibrine ook reeds is gewezen door RULOT (l.c.) die dit zagen optreden bij fibrine, die bereid was uit fibrinogeen, waarbij overigens de fibrinolyse ontbreekt.

De proeven, waarbij aan fibrine azijnzuur werd toegevoegd om den invloed hiervan op de autolyse na te gaan, mislukten, doordat de fibrine tot een gelatineuze massa opzwol, die zich niet verder liet behandelen. Noch langdurig centrifugeeren, noch filtreeren hielpen hier; ten slotte werd na 24 uur zuigen door een Chamberland'sche kaars een heldere vloeistof verkregen, doch van kwantitatief onderzoek was toen geen sprake meer.

Vergelijkt men de bij fibrinolyse verkregen cijfers met die bij autolyse van gedefibrineerd bloed, dan valt direct op, dat de oplossing van stikstof in het eerste geval veel belangrijker is. We meenen hieruit, al is 't dan met eenige reserve, op te mogen maken, dat bij de autolyse van bloed niet alle eiwitten worden afgebroken, doch slechts enkele, en het ligt dan voor de hand om te veronderstellen, dat de eiwitten van het bloedserum aan de oplossing niet deel nemen. Om deze veronderstelling te steunen, hebben we bloedserum afzonderlijk laten autolyseeren.

Versch gedefibrineerd paardebloed werd in de ijskast geplaatst; na 8 uren werd het serum afgepipetteerd en daarna in een elektrische centrifuge gedurende 5 minuten gecentrifugeerd; na deze bewerking was het tegenover lacmoes alcalisch reageerende serum geheel helder en bevatte geen bloedkleurstof; het was echter lichtbruin van kleur. HAMMARSTEN¹⁾ geeft aan, dat in paardebloedserum dikwijls bilirubine voorkomt; ik kon in het serum dan ook volgens de methode van STEENSMA²⁾ galkleurstoffen aantoonen en wel op de volgende wijze: Bij enkele

¹⁾ Lehrbuch d. physiol. Chemie, 186, 1907.

²⁾ Zentrbl. ges. Physiol. u. Pathol. Stoffwechs. No. 6, 1908.

c.cM. van het serum werd alcohol van 95 % gedaan in een verhouding 2 : 3 en daarna gefiltreerd. Het filtraat werd met zoutzuren alcohol aangezuurd en verhit, waarna een lichtgroene kleur optrad, die na toevoegen van een druppel $\frac{1}{2}$ % natriumnitriet duidelijker werd.

Telkens 100 c.cM. van dit serum werden verdund met 100 c.cM. aq. dest. en 5 c.cM. chloroform toegevoegd; de eene helft der flesschen werd tot 90 ° C. verhit. Na eenigen tijd werden de flesschen, die in de broedstoof waren geplaatst, geopend, bacteriologisch gecontroleerd, en de inhoud met 150 c.cM. aq. dest. in een porseleinen schaal gespoeld. Nadat tot koken was verhit, werd 10 c.cM. azijnzuur van 6 % toegevoegd. Na filtreren bleek de vloeistof nog eiwit te bevatten; daarna werd aan het filtraat 200 c.cM. aceton toegevoegd, waardoor spoedig een grofvlokkig neerslag ontstond, dat na 24 uur door filtratie wordt verwijderd, en 2 maal nage-wasschen met 75 c.cM. aq. dest. + 25 c.cM. aceton. Het nu eiwitvrije filtraat en het waschwater werden vervolgens door distillatie van aceton bevrijd, ingedampt en in een maatkolfje op een volume van 100 (resp. 50) c.cM. gebracht. Van elke portie worden 2 KJELDAHL-bepalingen gedaan ieder van 5 c.cM.

Het stikstofgehalte bleek te zijn in grammen: (Zie Tabel IX).

Duur der autolyse.	Niet verhit serum.	Verhit serum.
44 dagen	0.056 gram	0.053 gram
60 „	0.040 „	0.050 „

De waarden verschillen hier nogal veel, waarschijnlijk ten gevolge van de omslachtige methode; dat autolyse ontbreekt, mag er echter wel uit worden afgeleid.

Een volgende reeks proeven, waarbij het serum op eenigszins andere wijze werd verkregen, gaf dezelfde resultaten.

Paardenbloed werd in een groot glas opgevangen; na 24 uur was het serum uitgeperst, dat werd afgepipetteerd en gedurende 10 minuten in een elektrische centrifuge gedraaid, waarna het volkomen helder was; het bevatte echter een weinig haemoglobine. Hoeveelheden van 50 c.c.M. serum werden verdund met 150 c.c.M. gedistilleerd water en 15 c.c.M. toluol toegevoegd; bij een aantal werd bovendien 10 c.c.M. azijnzuur van 6% gedaan, terwijl de contrôles tot 98° werden verhit. Bij het openen der flesschen werd op de aanwezigheid van bacteriën onderzocht met negatief resultaat; dan de inhoud met 100 c.c.M. gedistilleerd water in een porseleinen schaal gespoeld, tot koken verhit, na afkoeling 10 c.c.M. azijnzuur van 6% toegevoegd, en alles met 200 c.c.M. aceton in een Erlenmeyer'sche kolf geschonken. 24 uur later werd gecoleerd, uitgeperst en tweemaal uitgewaschen met 60 c.c.M. water + 25 c.c.M. aceton. Nadat deze was afgedistilleerd, werd de vloeistof ingedampt en op een volumen van 50 c.c.M. gebracht, en ten slotte werden 2 KJELDAHL-bepalingen gedaan, elk van 10 c.c.M. 50 c.c.M. serum bevatten aan opgeloste stikstof. (Zie Tabel X).

Duur der Autolyse.	Niet verhit serum.	Verhit serum.
0 dagen	0.040 gram	—
33 "	0.037 "	—
33 "	0.032 "	Mislukt.

Uit deze cijfers blijkt wel, dat er geen autolyse plaats vond, wat niet behoeft te verwonderen, daar het bloed-

serum de verschillende fermentwerkingen sterk remt. De proeven, waarbij het serum samengebracht was met azijnzuur, mislukten allen, omdat ik er niet in slaagde het eiwit te verwijderen door coagulatie; er kwam een sterke opalescentie, die ik noch door herhaald filtreren, noch door een zuigfilter, noch door centrifugeeren heb kunnen verwijderen.

Waar het dus waarschijnlijk bleek, dat de in gede-fibrineerd bloed optredend autolyse van de vormelementen afhankelijk is, en reeds is aangetoond, dat de leucocyten fermentdragers zijn, lag het voor de hand na te gaan, of ook de chromocyten in dezen een rol spelen.

Het was moeilijk een zuivere chromocytenbrij te krijgen, want niet alleen het bloedserum, doch ook de leucocyten moesten verwijderd worden. ABDERHALDEN c.s., die zooals we in Hoofdstuk II vermeldde, proeven namen met chromocyten, verkregen deze als volgt: Met ammonium-oxalaat behandeld bloed werd gecentrifugeerd, het plasma verwijderd en dan de bloedlichaampjesbrij door lange met watten gevulde buizen gefiltreerd, waarbij de leucocyten achter bleven; zoo noodig werd een tweede maal gefiltreerd.

Daar wij echter de bloedlichaampjes zoo veel mogelijk wenschten te sparen en vrij te houden van vreemde bestanddeelen en het afscheidingsproces zoo spoedig mogelijk wilden bewerkstelligen, gingen we als volgt te werk:

Gedefibrineerd *paarden*bloed werd in de ijskast gezet; na 20 à 24 uur waren de chromocyten voldoende bezonken; dan werd, terwijl ik zorgde, dat de vloeistof niet in beweging kwam; een groote steriele pipet in den vorm van een Pasteur'sche pipet met nauw capillair uit-

einde tot op den bodem van het vat gestoken en vervolgens werden de chromocyten met behulp van een luchtpomp opgezogen. Zoodra de pipet gevuld was, werd zij voorzichtig uit de vloeistof gehaald, van buiten zorgvuldig gereinigd en in een steriel bekeerglas geledigd; de laatste rest werd weggegooid. De zoo verzamelde chromocyten werden met een gelijk volumen physiologische zoutsolutie verdund. Na 6 minuten centrifugeeren werd de bovenstaande vloeistof afgepipetteerd en vervangen door physiologische zoutsolutie; dan werd opnieuw 6 min. gecentrifugeerd. Deze bewerking werd nog eens herhaald en ten slotte de chromocytenbrij in een steriel bekeerglas verzameld en goed dooreen geroerd. Er werden een drietal strijkpraeparaten op objectglazen gemaakt, gefixeerd in aether-alcohol en gekleurd volgens GIEMSA en met LÖFFLER'sch-methyleenblauw. Bij het doorzoeken der praeparaten werden noch leucocyten, noch bloedplaatjes gevonden, terwijl de chromocyten hun vorm goed hadden behouden.

In een eerste reeks proeven werden van de op boven beschreven wijze verkregen chromocyten telkens hoeveelheden van 5 c.cM. met 25 c.cM. gedistilleerd water verdund en met 5 c.cM. toluol vermengd; de contrôle-flesschen werden verhit tot 95° C.

Bij de na verloop van tijd uit de broedstoof genomen flesschen werd 60 c.cM. gedistilleerd water toegevoegd; dan werd in een porseleinen schaal tot koken verhit, 3 c.cM. azijnzuur van 6 0/0 toegevoegd en na afkoeling 150 c.cM. aceton bijgeschonken. Na 2 maal 24 uur werd afgefiltreerd, het filter tweemaal uitgewasschen met 25 c.cM. aceton en 60 c.cM. water. Na afdistilleeren van de aceton en indampen werd de vloeistof op een volumen van

50 c.cM. gebracht. Hiervan werden telkens 2 KJELDAHL-bepalingen van 10 c.cM. elk gedaan.

Het resultaat was in deze reeks, dat het aantal grammen opgeloste stikstof per 5 c.cM. chromocytenbrij bedroeg: (Zie Tabel XI).

Duur der autolyse. o dagen	Niet verhitte chromocyten. 0.022 gram	Tot 94° verhitte chromocyten. —
21 „	0.018 „	0.020 gram
32 „	0.024 „	0.032 „
47 „	0.030 „	0.025 „
68 „	0.020 „	0.015 „

In de eerste reeks der proeven met chromocyten moesten de hoeveelheden klein worden genomen, daar we slechts een kleine elektrische centrifuge ter beschikking hadden, terwijl alles 3 maal moest worden gecentrifugeerd, en in één middag worden afgewerkt.

De resultaten, die we dan ook gekregen hebben, zijn daarom niet geheel bewijzend. Een paar flesschen, die autolyse vertoonden, bleken niet steriel te zijn (*bac. subtilis*) en moesten dus buiten beschouwing worden gelaten.

Toen de groote elektrische centrifuge van 300 c.cM. capaciteit voor 't gebruik gereed was, werden de proeven met grootere hoeveelheden herhaald.

Versch gedefibrineerd *paarden*bloed werd in de ijskast gezet en na 6 uur werden de chromocyten, toen zij grootendeels waren bezonken, met groote steriele Pasteur'sche pipetten, die voorzichtig tot op den bodem waren gestoken, met behulp van een luchtpomp opgezogen. Aan deze massa werd $\frac{1}{3}$ volumen physiologische zoutoplossing toegevoegd, daarna het mengsel tot den volgenden dag in de ijskast gezet. Na centrifugeeren gedurende

15 minuten (4000 omwentelingen per minuut) werd het bovenstaande serum afgepipetteerd en de chromocyten met een gelijk volumen steriele physiologische zoutsolutie verdund, dan gedurende 10 minuten weer gecentrifugeerd en de bovenstaande vloeistof afgezogen. Deze bewerking werd nu nogmaals herhaald en daarna de chromocytenbrij goed dooreen gemengd.

In 3 strijkpraeparaten, welke uit verschillende deelen der vloeistof werden genomen en met de kleurstof van GIEMSA gekleurd, werden geen leucocyten gevonden. Cultures op agar en in bouillon uit deze brij gemaakt bleken na 3 dagen nog steriel te zijn.

Nu werden porties van 25 c.cM. elk verdund met 150 c.cM. steriel gedistilleerd water en na toevoegen van 200 c.cM. toluol in de broedstoof geplaatst. De contrôleflesschen werden gedurende een half uur in den sterilisator op 90°—92° C. gehouden.

Na verschillende tijden werden de flesschen weer behandeld als vroeger reeds vermeld werd; na coagulatie werden ze gedurende 3 dagen onder aceton gehouden. (Zie Tabel XII en Fig. 2).

Duur der Autolyse.	Niet verwarmde bloedlich.	Gedurende een half uur op 90° C. verwarmde bloedlich.
0 dagen	0.016 gram	0.016 gram
7 "	0.024 "	0.022 "
14 "	0.028 "	0.021 "
22 "	0.034 "	0.021 "
29 "	0.037 "	0.024 "
36 "	0.046 "	0.023 "

De medegedeelde cijfers geven duidelijk een geleidelijke toename van de opgeloste, niet-coaguleerbare stikstof te

zien bij de autolyse-flesschen, terwijl deze in de contrôle-flesschen ontbreekt of uiterst gering is.

Het is hiermee o. i. wel aangetoond, dat ook chromocyten autolyse vertoonen, zooals trouwens wel was te verwachten, daar immers van alle fermenten bevattende weefsels autolyse is aangetoond, en zooals in Hoofdstuk II werd gezegd ook de chromocyten een groot aantal fermenten bevatten.

Het valt op, dat de toename der opgeloste stikstof in alle gevallen zoo gering is; dit zou zich misschien hierdoor laten verklaren, dat slechts enkele eiwitlichamen worden ontleed. De verschillende onderzoekers en ook ik vond, dat het bloedserum niet wordt ontleed; het remt zelfs autolytische processen. Het materiaal moet dus in de vormelementen worden gezocht en dan komt wel in de eerste plaats het betrekkelijk zwakke haemoglobine-molecule in aanmerking. De kleur der autolysevloeistoffen verandert dan ook geleidelijk; eerst zien we de roode kleur der (oxy)haemoglobine, die langzamerhand donkerder wordt om tamelijk spoedig donkerbruin te worden (haematine?). Ook hier is in de reeks der contrôle-proeven op den duur een geringe toename van de opgeloste stikstof.

Doordat ik genoodzaakt was in het algemeen met kleine hoeveelheden vloeistof te werken, heb ik geen geregeld onderzoek ingesteld naar den aard der gevormde producten; wel heb ik telkens nagegaan of in de onderzochte vloeistof de biureetreactie positief was, wat vrij dikwijls het geval bleek te zijn. Voor zooverre die flesschen steriel gebleven waren, kon ik deutoalbumosen aantoonen door toevoeging van verzadigde keukenzout-oplossing en verdund azijnzuur, waarna een neerslag

ontstond, dat bij verwarming oploste om na afkoeling terug te komen, enz.; in deze gevallen viel de proef met ferrocyaankalium-oplossing en verdund azijnzuur eveneens positief uit.

Een zilverneerslag, dat onoplosbaar was in ammoniak, kon ik in geen enkel geval krijgen: purinelichamen kon ik dus niet aantoonen.

Teneinde na te gaan of ook tyrosine en leucine gevormd werden, heb ik versch gedefibrineerd paardenbloed laten bezinken, het serum afgepipetteerd en nu 1 L. van het bezinksel verdund met 2,650 L. gedistilleerd water, 16 c.cM. 6 0/0 azijnzuur toegevoegd en alles met een flinken scheut toluol in een groote flesch in de broedstoof bij 40° geplaatst; elken dag werd de massa, die reeds spoedig stolde, 2 maal goed geschud. Na 26 dagen werd de flesch geopend, de massa uitgeschud op een zeef, het coagulum flink uitgedrukt en na de vloeistof, *die zwak alkalisch reageerde*, in een porseleinen schaal tot koken verhit, dan 15 c.cM. 6 0/0 azijnzuur toegevoegd, waarop fraaie coagulatie plaats vond; nu werd warm gefiltreerd door papier en liep er een heldergele eiwit- en bloedkleurstofvrije vloeistof door. Daar de bloedcoagula niet behoefden uitgewasschen te worden, was de acetonbewerking overbodig, omdat ik nu geen last had van de bloedkleurstof. Het verkregen filtraat werd voor een deel boven zwavelzuur gedroogd, voor een ander deel op een waterbad ingedampt.

In de ingedampte vloeistof vond ik zeer groote hoeveelheden tyrosinekristallen in alle modificaties, die daarvan zijn beschreven, zooals naaldjes, die gerangschikt lagen in pluimpjes, in schoven, in dubbele pluimpjes met de punten aan elkaar en ook in rosetten. Verder vond

ik leucinekogels, n.l. ronde schijfjes met dubbele gekartelde contouren, die dikwijls samengegroeid waren en waarvan vele een fijne radiaire streeping vertoonden. De pogingen om de lichamen zuiver te bereiden, teneinde tot een nadere identificatie te komen, mislukten.

Ik heb verder nog getracht na te gaan, welke fermenten in de roode bloedlichaampjesbrij en welke in fibrine aangetoond kunnen worden.

Een hoeveelheid chromocytenbrij van ± 200 c.c.M. verkregen op reeds boven beschreven wijze, en die autolyse vertoonde, werd boven zwavelzuur gedroogd, welk proces na 6 dagen was afgelopen; de brokkelige massa werd in een mortier tot poeder gewreven, daarna zorgvuldig met glycerine afgewreven en ten slotte glycerine toegevoegd tot 5 maal het volumen. Deze massa werd nu gedurende 2 maal 16 uur in een schudmachine geschud en daarna gefiltreerd door een papieren filter van JARDIN. Na 2 dagen was de vloeistof bruinrood doorgelopen. Dit glycerine-extract werd met 5 maal zijn volumen alcohol van 96 % goed gemengd, en gedurende 2 dagen op een koele plaats in een smal hoog glas bewaard. Er ontstond geleidelijk een gering fijnvlokkig praecipitaat; de bovenstaande vloeistof werd zoo veel mogelijk voorzichtig afgezogen en de rest door een klein gehard filtertje gefiltreerd, het praecipitaat daarna met alcohol van 96 % nagewasschen. Er bleef nu een doorschijnende, vrij harde massa, die tot poeder kon worden gewreven en toen grootendeels in aq. dest. oploste; met deze oplossing werden de proeven ter opsporing van fermenten genomen (bloedextract).

De fibrine werd na zorgvuldig uitwasschen eveneens boven zwavelzuur gedroogd, tot poeder gewreven, in

dezelfde verhouding en op dezelfde wijze met glycerine behandeld en na filtratie met alcohol neergeslagen. Het neerslag, dat zeer volumineus was en veel albumosen bevatte, werd uitgewasschen, gedroogd, tot poeder gewreven en in gedistilleerd water opgelost (fibrine-extract).

De beide extracten reageerden zwak zuur en waren opalescent, terwijl onder in de flesch een bezinksel bleef.

Allereerst werd onderzocht met de methode van FULD ¹⁾ of de extracten een peptische werking bezaten; daartoe werd een oplossing van 1 pro mille edestine in 97 deelen aq. dest. en 3 deelen normaal zoutzuur gemaakt. Aan telkens 2 c.cM. dezer edestine-oplossing werd de extracten in afdalende hoeveelheden (20, 15, 10 en 5 druppels) toegevoegd en de mengels gedurende 24 uur in de broedstoof bij 39° C. geplaatst. Hierna werd aan de verschillende buisjes wat keukenzout toegevoegd, waarna overal een even intensieve troebeling ontstond als in de contrôle-buisjes: er was dus geen edestine gedigereerd. Deze proeven, viermaal met beide extracten verricht, gaven steeds een negatief resultaat; ik heb dus geen peptische werking kunnen aantoonen.

Het onderzoek naar de tryptische werking geschiedde volgens de methode van GROSZ ²⁾. Een caseïne-oplossing van 1 pro mille werd bereid met behulp van een oplossing van 1 pro mille natriumcarbonaat, en dan werden de volgende mengsels gereed gemaakt:

I.	2 c.cM.	caseïne-opl.	+	20	dr. bloedextract	+	0	dr. aq. dest.
II.	2	"	+	15	"	+	5	" " "
III.	2	"	+	10	"	+	10	" " "
VI.	2	"	+	5	"	+	15	" " "
V.	2	"	+	0	"	+	20	" " "

¹⁾ Biochem. Zschr. 6, 473, 1907.

²⁾ SCHMIEDEBERG's Archiv 58, 157, 1908.

Deze buisjes werden bij 39° C. geplaatst en na resp. 24 en 48 uur 3 druppels 6 0/0 azijnzuur toegevoegd; de onverteerde caseïne slaat dan neer. Het bleek, dat na 24 en 48 uur alleen in het eerste buisje (I) tryptische werking had plaats gevonden. Toevoeging van 2 druppels 20 0/0 natrium-carbonaatoplossing ten einde het milieu wat sterker alkalisch te maken, aangezien de te onderzoeken vloeistoffen zwak zuur reageerden, gaf hetzelfde resultaat.

Met het fibrine-extract werden de proeven juist op dezelfde wijze gedaan, met hetzelfde resultaat. We mogen dus aannemen, dat de extracten bereid uit chromocyten en uit fibrine zwak tryptisch werken.

In de derde plaats werd gezocht naar het amylolytisch ferment volgens de methode van WOHLGEMUT¹⁾ met de modificatie van SCHLESINGER²⁾, waarbij een oplossing van amyllum solubile (KAHLBAUM) van 1 pro mille wordt gebruikt en na afloop der proef 2 druppels joodjoodkalium oplossing worden toegevoegd; indien het amyllum is omgezet, ontstaat er een lichtrose of geen verkleuring. Bij deze modificatie moet men er op letten, dat eiwit in staat is een zekere hoeveelheid jodium te binden, zoodat men zich door een contrôle-proef er van moet overtuigen, of het wegblijven van de blauwe kleur, wel afhankelijk is, van het ontbreken van amyllum.

Ook hier plaatste ik de buisjes gedurende 24 uur in broedstoof bij 39° C.

I.	2	c.cM. amyllum-opl.	+	20	dr. fibrine-extract	+	0	dr. aq. dest.	
II.	2	"	"	+	15	"	+	5	" " "
III.	2	"	"	+	10	"	+	10	" " "
VI.	2	"	"	+	5	"	+	15	" " "
V.	2	"	"	+	0	"	+	20	" " "

¹⁾ Münch. m. W. 1907, 2113 (Ref.).

²⁾ Deut. m. W. 1908, 593.

Na 24 uur kleurden zich I en II in 't geheel niet meer, III en IV werden zwakker gekleurd dan V (contrôle) en hadden een violette bijtint.

Bij hetzelfde onderzoek met bloedextract werden I, II en III zwak blauw-violet en IV iets minder gekleurd dan V.

Het bleek dus, dat het fibrine-extract duidelijk amylolyse gaf, en dat het bloedextract dit evenzeer deed, doch in mindere mate.

Het onderzoek naar chymosinewerking volgens de methode van MORGENROTH ¹⁾ gaf een negatief resultaat; daartoe werden 5 c.cM. ongekookte melk op 40° C. gebracht, met 30, 20, 15, 10, 5 en 0 druppels der extracten gemengd en de buisjes bij 40° C. geplaatst; na 1, 2 en 3 uur werd echter geen stolling waargenomen.

Hetzelfde resultaat leverde het zoeken naar lipolytisch ferment volgens de methode van HANRIOT ²⁾: kolfjes van 10 c.cM. 1 0/0 monobutyryne-oplossing werden met 15, 10, 5 en 0 druppels der extracten samengebracht en gedurende 24 uur in de broedstoof bij 30° geplaatst. Van te voren had ik mij overtuigd, dat na toevoeging van 3 druppels phenolphthaleïne aan de monobutyryne-oplossing, 1 druppel ⁿ/₁₀ natronloog reeds een roode kleur gaf; na afloop der proef was dit met alle kolfjes nog steeds het geval, zoodat de monobutyryne dus niet was ontleed.

Katalase-werking bleek in geringe mate aanwezig bij bloed. Enkele druppels van het bloedextract toegevoegd aan 3 0/0 waterstof-superoxyd, gaven ontleding en zuurstofontwikkeling.

¹⁾ Zie OPPENHEIM, Die Fermente, etc., 181.

²⁾ Zie OPPENHEIM, Die Fermente, etc., 286.

Resumeerende heb ik dus bij het fibrine-extract vrij sterke amylylyse kunnen aantoonen en zwakke trypsine-werking; bij het chromocyten-extract vond ik amylylyse en trypsinewerking; verder bleek er katalase aanwezig. Het is natuurlijk moeielijk met zekerheid te zeggen of door de wat langdurige bewerking de andere fermenten zijn vernietigd; dit is wel mogelijk, daar door verschillende onderzoekers deze fermenten in bloed zijn gevonden.

Om den grooten fermentrijkdom der leucocyten aan te toonen, heb ik aan een chromocytenbrij de bovenste lagen bloedlichaampjes toegevoegd, die in gedefibrineerd bloed waren bezonken en die immers het rijkst zijn aan witte bloedlichaampjes. Dit mengsel liet ik gedurende eenigen tijd over aan autolyse, terwijl de contrôles gedurende een half uur op 90° verhit werden; nu bleek, dat de stikstof, die in oplossing ging (ook bij de contrôles) verdubbelde. (Zie Tabel XIII).

Duur der autolyse.	Niet verwarmd.	Ged. $\frac{1}{2}$ uur op 90° C. verwarmd.
13 dagen	0.008 gr.	0.016 gr.
30 „	0.015 „	0.030 „

Om uit te maken in hoeverre de vermeerdering der opgeloste stikstof tevens afhankelijk is van autolyse der leucocyten zelf, heb ik de volgende proef gedaan.

Ik maakte eerst op de gewone wijze een chromocytenbrij, verder pipetteerde ik de bovenste lagen van in gedefibrineerd bloed bezonken bloedlichaampjes af, liet deze in reageerbuizen bezinken en na vermenging met eigen bloedserum, pipetteerde ik na 12 uur weer de bovenste lagen af, waschte deze 2 maal met physiologische zoutsolutie en maakte nu drie flesschen met den volgende inhoud:

No. 123 10 c.cM. leucocyten en 10 c.cM. aq. dest. en 10 c.cM. toluol.

No. 124 10 c.cM. leucocyten en 10 c.cM. chromocyten en 40 c.cM. aq. dest. en 20 c.cM. toluol.

No. 125 10 c.cM. chromocyten en 30 c.cM. aq. dest. en 10 c.cM. toluol.

Daar de massa, waarin voornamelijk leucocyten zich bevonden, per c.cM. veel minder vormelementen bevatte dan de chromocytenbrij, werd deze laatste sterker verdund (3 maal) dan de eerste. In No. 124 werd de som van No. 123 en 125 gedaan.

Na een autolyse van 20 dagen vond ik als hoeveelheid opgeloste stikstof in de 3 flesschen respectievelijk:

No. 123 . . .	0.015 gram	} Zie Tabel XIV.
No. 124 . . .	0.019 "	
No. 125 . . .	0.012 "	

We zouden in No. 124 meer stikstof in oplossing verwachten; nu is het mogelijk, dat ook hier sprake is van een wederzijdsche remming van de beide soorten bloedlichaampjes, een verschijnsel, dat zooals ik reeds in Hoofdstuk I mededeelde, door verschillende onderzoekers is opgemerkt; in dat geval moeten we veronderstellen, dat de sterke vermeerdering van de opgeloste stikstof in de reeks Nos. 110—113 veroorzaakt wordt door de meerdere leucocyten, die de autolyse ondergaan. Ik ben voornemens deze verhoudingen later nog verder na te gaan.

TABEL I.

Contrôle der methode.

Versche runderleverbrij. A en B versch behandelde porties.

No. 46 en 47 niet verhit; No. 48 tot 100° C. verhit; No. 49 ged. 1 uur op 60° C. verhit.

DATUM.	No.	Hoeveelheid materie.	Duur der autolyse.	Vloeistof op volumen.	Toegevoegd $\frac{n}{10}$ NaOH.	Hoeveelheid stikstof per 5 c.c.M.	Totale hoeveelheid stikstof.	Reactie t.o.v. lakmoes.	Biurectreactie.	Cultures.	
		Gr.	Dag.	c.c.M.		m.Gr.	Gr.				
6-5-08	A	200	—	250	38.25	8.35	0.418	—	neg.	—	Titer = 8.84
	"	200	—	250	38.4	8.14	0.407	—	"	—	
	B	200	—	250	37.8	8.98	0.449	—	"	—	
	"	200	—	250	37.95	8.77	0.439	—	"	—	
27-5-08	46 A ¹	200	21	250	37.1	9.61	0.481	zuur	"	neg.	Titer = 8.79
	"	200	21	250	37.2	9.48	0.474	"	"	"	
	46 B ¹	200	21	250	36.85	9.96	0.498	"	"	"	
	"	200	21	250	36.7	10.18	0.509	"	"	"	
	47 A ¹	200	21	250	37.—	9.76	0.488	"	"	"	
	"	200	21	250	36.95	9.83	0.491	"	"	"	
	47 B ¹	200	21	250	35.8	11.44	0.572	"	"	"	
	"	200	21	250	36.05	11.09	0.555	"	"	"	
	48 A ¹	200	21	250	38.65	7.44	0.372	"	"	"	
	"	200	21	250	—	—	—	"	"	"	
	48 B ¹	200	21	250	39.1	6.81	0.340	"	"	"	
	"	200	21	250	39.2	6.67	0.333	"	"	"	
	49 A ¹	200	21	250	38.1	8.21	0.411	"	"	"	
	"	200	21	250	38.25	8.00	0.400	"	"	"	
	49 B ¹	200	21	250	37.35	9.27	0.463	"	"	"	
	"	200	21	250	37.5	8.98	0.449	"	"	"	

A¹ met aceton behandeld.B¹ niet met aceton behandeld.

N.B. Titer 8.84 wil zeggen 10 c.c.M. van het gebruikte zwavelzuur = 8.84 c.c.M.

 $\frac{1}{10}$ norm. natronloog.

TABEL II.

Contrôle der methode.

Runderlever. C niet gekookt. D gekookt.

DATUM.	No.	Hoeveelheid materie.	Duur der autolyse.	Vloeistof op volumen.	Toegevoegd $\frac{n}{10}$ NaOH.	Hoeveelheid stikstof per 10 c.cM.	Totale hoeveelheid stikstof.	Reactie t.o.v. lakmoes.	Biurectreactie.	Cultures.	
6-5-08		Gr.	Dag.	c.cM		m.Gr.	Gr.				Titer = 10.1.
11-3-09	C A ¹	50	309	100	42.6	11.09	0.222	zuur	pos.	neg.	
	"	50	309	100	42.0	10.67	0.214	"	"	"	
	C B ¹	50	309	100	41.5	12.64	0.252	"	"	"	
	"	50	309	100	41.7	12.35	0.246	"	"	"	
	D A ¹	50	309	100	45.75	6.68	0.134	"	"	"	
	"	50	309	100	46.—	6.32	0.126	"	"	"	
	D B ¹	50	309	100	44.65	8.21	0.164	"	"	"	
	"	50	309	100	—	—	—	"	"	"	

TABEL III.

Autolyse van gedefibrineerd paardebloed.

No. 15—22 niet verhit; No. 23—26 physiol. zoutsof. in pl. v. aq. dest., niet verhit;
 No. 27—34 vooraf tot 90° verhit. Per 5 c.cM.

28-2-08	a	100	—	100	46.2						Titer = 9.55
	b	100	—	100	46.05	2.18	0.043	—	—	—	
	c	100	—	100	46.35						
12-3-08	15	100	13	100	45.7	2.86	0.057	alk.	neg.	neg.	
	15	100	13	100	45.75			"	"	"	
	16	100	13	100	45.65	2.95	0.058	"	"	"	
	16	100	13	100	—	—	—	"	"	"	
20-3-08	17	100	21	100	44.5	4.56	0.092	"	"	"	
	17	100	21	100	44.5			"	"	"	
	18	100	21	100	44.4	4.70	0.094	"	"	"	
	18	100	21	100	44.3			"	"	"	
27-3-08	19	100	28	100	45.45	3.97	0.079	"	"	pos.	Titer = 9.65
	19	100	28	100	45.4			"	"	"	
	20	100	28	100	45.4	4.07	0.081	"	"	neg.	
	20	100	28	100	45.3			"	"	"	

TABEL III (vervolg).

DATUM.	No.	Hoeveelheid materie.	Duur der autolyse.	Vloei- of op- volumen.	Toegevoegd $\frac{n}{10}$ NaOH.	Hoeveelheid stikstof per 5 c.M.	Totale hoeveelheid stikstof.	Reactie t.o.v. lakmoes.	Biurectreactie.	Cultures.	
		Gr.	Dag.	c.cM		m.Gr.	Gr.				
3-4-08	21	100	35	100	44.8	4.84	0.096	alk.	neg.	neg.	
	21	100	35	100	45.7			"	"	"	
	22	100	35	100	44.5	5.24	0.105	"	"	"	
	22	100	35	100	44.55			"	"	"	
12-3-08	23	100	13	100	45.7	2.95	0.058	"	pos.	"	Titer = 9.55
	23	100	13	100	45.6			"	"	"	
20-3-08	24	100	21	100	44.45	4.56	0.092	"	neg.	pos.	
	24	100	21	100	44.55			"	"	"	
27-3-08	25	100	28	100	45.1	4.39	0.088	"	pos.	neg.	Titer = 9.65
	25	100	28	100	45.15			"	"	"	
3-4-08	26	100	35	100	44.5	5.52	0.110	"	"	"	
	26	100	35	100	44.15			"	"	"	
12-3-08	27	100	13	100	46.2	2.18	0.044	"	"	"	Titer = 9.55
	27	100	13	100	46.2			"	"	"	
	28	100	13	100	41.2	9.20	0.184	"	"	"	
	28	100	13	100	41.2			"	"	"	
20-3-08	29	100	21	100	45.1	3.65	0.072	"	"	"	
	29	100	21	100	45.2			"	"	"	
	30	100	21	100	44.0	5.19	0.104	"	"	"	
	30	100	21	100	44.1			"	"	"	
27-3-08	31	100	28	100	44.85	4.63	0.093	"	neg.	pos.	Titer = 9.65
	31	100	28	100	45.05			"	"	"	
	32	100	28	100	40.8	10.43	0.209	"	pos.	"	
	32	100	28	100	40.85			"	"	"	
3-4-08	33	100	35	100	45.6	3.51	0.070	"	"	"	
	33	100	35	100	45.9			"	"	"	
	34	100	35	100	35.2	18.15	0.363	"	"	"	
	34	100	35	100	35.45			"	"	"	

TABEL IV.

Gedefibrineerd paardebloed.

No. 35—38 niet verhit; No. 41—44 ged. 1 uur op 60°.

DATUM.	No.	Hoeveelheid materie.	Duur der autolyse.	Vloeistof op volumen.	Toegevoegd $\frac{n}{10}$ NaOH.	Hoeveelheid stikstof per 10 c.cM.	Totale hoeveelheid stikstof.	Reactie t.o.v. lakmoes.	Biureetreactie.	Cultures.	
		Gr.	Dag.	c.cM		m.Gr.	Gr.	alk.	neg.	neg.	
14-4-08	AA	100	—	100	46.5	2.46	0.049	"	"	"	Titer = 8.84.
	"	100	—	100	46.8	2.03	0.041	"	"	"	(van 5 c.cM vloeistof de KJELDAHL-bepaling.)
	BB	100	—	50	43.1	7.13	0.036	"	"	"	
	"	100	—	50	43.25			"	"	"	
22-4-08	35	100	8	50	39.75	11.86	0.059	"	"	"	
	35	100	8	50	39.85			"	"	"	
27-4-08	36	100	13	50	34.75	13.38	0.067	"	"	"	
	36	100	13	50	34.6			"	"	"	
11-9-08	37	100	152	50	5.3	54.24	0.271	"	pos.	"	Titer = 8.79
	37	100	152	50	5.35			"	"	"	
21-9-08	38	100	162	50	10.3	47.24	0.286	"	"	pos.	
	38	100	162	50	—	—	—	"	"	"	
22-4-08	41	100	8	50	40.2	11.41	0.057	"	"	neg.	Titer = 9.65
	41	100	8	50	40.05			"	"	"	
27-4-08	42	100	13	50	35.05	12.64	0.063	"	"	pos.	Titer = 8.84
	42	100	13	50	35.35			"	"	"	
21-9-08	44	100	162	50	9.95	47.88	0.239	"	"	neg.	Titer = 8.79
	44	100	162	50	9.75			"	"	"	

TABEL V.

Gedefibrineerd Kalfsbloed.

No. 54—56 verhit tot 100 ° C.; No. 54—59 niet verhit.

DATUM.	No.	Hoeveelheid materie.	Duur der autolyse.	Vloeistof op volumen.	Toegevoegd $\frac{n}{10}$ NaOH.	Hoeveelheid stikstof per 10 c.M.	Totale hoeveelheid stikstof.	Reactie t.o.v. lakmoes.	Biureetreactie.	Cultures.	
		Gr.	Dag.	c.cM		m.Gr.	Gr.				
20-5-08	C.C.	100	—	100	41.7	3.51	0.060	—	—	—	Titel = 8.84
	"	100	—	100	41.9	3.23		—	—	—	
5-6-09	54	100	17	100	41.95	2.81	0.056	alk.	neg.	neg.	Titer = 8.79
	54	100	17	100	42.15	2.53	0.050	"	"	"	
6-1-09	55	100	23 I	100	45.85	4.84	0.97	"	"	"	
	55	100	23 I	100	46.25			"	"	"	
	56	100	23 I	100	45.05	6.08	0.122	"	"	pos.	
	56	100	23 I	100	45.3			"	"	"	
5-6-08	57	100	17	100	41.6	3.30	0.066	"	"	"	
	57	100	17	100	41.7	3.16	0.063	"	"	"	
6-1-09	58	100	23 I	100	42.9	10.36	0.207	"	"	"	
	58	100	23 I	100	43.35			"	"	"	
	59	100	23 I	100	44.2	8.77	0.175	"	"	neg.	
	59	100	23 I	100	44.3			"	"	"	

TABEL VI.

Gedefibrineerd kalfsbloed met azijnzuur.¹⁾

No. 50 en 51 niet gekookt; No. 52 en 54 gekookt.

20-5-08											Titer = 8.79
5-6-08	50	100	17	100	40.1	5.40	0.108	zuur	neg.	neg.	
	50	100	17	100	40.2	5.26	0.106	"	"	"	
9-7-08	51	100	48	100	38.9	7.09	0.142	"	"	pos.	
	51	100	48	100	39.2	6.67	0.134	"	"	"	
5-6-08	52	100	17	100	42.3	2.32	0.046	"	"	"	
	52	100	17	100	42.25	2.39	0.048	"	"	"	
9-7-08	53	100	48	100	41.75	3.09	0.062	"	"	"	
	53	100	48	100	41.9	2.88	0.058	"	"	"	

¹⁾ In de reeksen van Tabel V en VI werd hetzelfde bloed gebruikt.

TABEL VII.

Gedefibrineerd paardebloed met azijnzuur.

No. 7 gekookt, No. 6 niet gekookt.

DATUM.	No.	Hoeveelheid materie.	Duur der autolyse.	Vloeistof op volumen.	Toegevoegd $\frac{n}{10}$ NaOH.	Hoeveelheid stikstof per 10 c.c.M.	Totale hoeveelheid stikstof.	Reactie t.o.v. lakmoes.	Biurectreactie.	Cultures.
16-12-07		Gr.	Dag.	c.c.M.		m.Gr.	Gr.			
22-2-08	6	200	67	250	44.—			zuur	pos.	Titer = 9.55
	6	200	67	250	43.75	5.54	0.277	"	"	
	6	200	67	250	43.65			"	"	
	7	400	67	500	46.3			"	"	
	7	400	67	500	46.1	2.03	0.204	"	"	
	7	400	67	500	46.5			"	"	

TABEL VIII.

Paardefibrine.

No. 60 en 61 gekookt; No. 62 en 63 niet gekookt.

6-6-08										
1-7-08	60	4	24	100	42.85	1.54	0.030	neutr.	pos.	neg.
	60	4	24	100	42.95	1.40	0.028	"	"	"
21-7-08	61	4	45	100	43.1	1.19	0.024	"	"	pos.
	61	4	45	100	43.1	1.19	0.024	"	"	"
1-7-08	62	4	24	100	40.1	5.40	0.108	"	"	neg.
	62	4	24	100	39.85	5.76	0.114	"	"	"
21-7-08	63	4	45	100	40.4	4.98	0.100	"	"	pos.
	63	4	45	100	40.2	5.26	0.106	"	"	"

TABEL IX.

Paardebloedserum.

No. 9 en 10 verhit tot 90°; No. 11 en 12 niet verhit.

26-2-08										
11-4-08	9	100	44	100	46.25	1.67	0.053	alk.	pos.	neg.
	9	100	44	100	46.45			"	"	"
27-4-08	10	100	60	50	41.1	10.08	0.050	"	"	"
	10	100	60	50	41.05			"	"	"
14-4-08	11	100	44	100	46.3	2.81	0.056	"	"	"
	11	100	44	100	46.2			"	"	"
27-4-08	12	100	60	50	42.25	8.39	0.040	"	"	"
	12	100	60	50	42.3			"	"	"

TABEL X.

Paardebloedserum.

No. 64 en 69 niet verhit.

DATUM.	No.	Hoeveelheid materie.	Duur der autolyse.	Vloeistof op volumen.	Toegevoegd $\frac{n}{10}$ NaOH.	Hoeveelheid stikstof per 10 c.cM.	Totale hoeveelheid stikstof.	Reactie t.o.v. lakmoes.	Biurectreactie.	Cultures.	
		Gr.	Dag.	c.cM		c.cM	Gr.				
27-11-08	—	50	—	50	44.8	8.00	0.040	—	neg.	neg.	Titer = 8.79
		50	—	50	44.95	7.79	0.039	—	"	"	
17-2-09	64	50	33	50	45.15	7.51	0.037	alk.	"	"	Titer = 10.1
	64	50	33	50	45.1	7.58	0.038	"	"	"	
	69	50	33	50	45.9	6.46	0.032	"	"	"	
	69	50	33	50	45.7	6.74	0.033	"	"	"	

TABEL XI.

Paardechromocyten.

No. 70—73 niet verhit; No. 74—77 verhit tot 95° C.

15-1-09	—	5	—	50	47.45	4.28	0.021	—			Titer = 10.1
		5		50	47.25	4.56	0.023	—			
6-2-09	70	5	21	50	47.85	3.73	0.019	alk.	neg.	neg.	
		5	21	50	48.05	3.44	0.017	"	"	"	
17-2-09	71	5	32	50	47.1	4.77	0.024	"	"	"	
	71	5	32	50		mislukt			"	"	
3-3-09	72	5	47	50	46.1	6.18	0.031	"	"	"	
	72	5	47	50	46.3	5.90	0.029	"	"	"	
24-3-09	73	5	68	50	47.55	4.00	0.020	"	zwak	"	
	73	5	68	50	47.7	3.79	0.019	"	"	"	
6-2-09	74	5	21	50	47.45	4.28	0.021	"	neg.	"	
	74	5	21	50	47.7	3.93	0.020	"	"	"	
17-2-09	75	5	32	50	45.5	7.02	0.035	"	"	pos.	
	75	5	32	50	46.25	5.97	0.030	"	"	"	
3-3-09	76	5	47	50	46.9	5.05	0.025	"	"	"	
	76	5	47	50	46.85	5.12	0.026	"	"	"	
24-3-09	77	5	68	50	48.4	2.81	0.014	"	"	neg.	
	77	5	68	50	48.2	3.09	0.015	"	"	"	

TABEL XII.

Paardechromocyten.

No. 90—94 verhit; 95—99 verhit.

DATUM.	No.	Hoeveelheid materie.	Duur der analyse.	Vloestof op volumen.	Toegevoegd n 10 NaOH.	Hoeveelheid stikstof per 10 c.cM.	Totale hoeeveelheid stikstof.	Reactie t.o.v. lakmoes.	Biureetreactie.	Cultures.	
		Gr.	Dag.	c.cM		m.Gr.	Gr.				
29-4-09	—	25	—	50	48.2	3.09	0.015	—	neg.	neg.	Titer = 10.1.
	—	25	—	50	48.05	3.39	0.016	—	"	"	
7-5-09	90	25	7	50	47.3	4.35	0.022	alk.	"	"	
	90	25	7	50	47.45	4.14	0.021	"	"	"	
14-5-09	91	25	14	50	47.45	4.14	0.021	"	"	"	
	91	25	14	50	47.3	4.35	0.022	"	"	"	
22-5-09	92	25	22	50	47.3	4.35	0.022	"	"	"	
	92	25	22	50	47.3	4.35	0.022	"	"	"	
29-5-09	93	25	29	50	47.1	4.63	0.023	"	"	"	
	93	25	29	50	46.95	4.84	0.024	"	"	"	
5-6-09	94	25	36	50	46.95	4.84	0.024	"	"	"	
	94	25	36	50	46.7	5.19	0.026	"	"	"	
7-5-09	95	25	7	50	47.—	4.77	0.024	neutr.	"	"	Titer = 10.1.
	95	25	7	50	47.1	4.63	0.023	"	"	"	
14-5-09	96	25	14	50	46.3	5.76	0.029	alk.	"	"	
	96	25	14	50	46.5	5.47	0.027	"	"	"	
22-5-09	97	25	22	50	45.7	6.60	0.033	"	"	"	
	—	25	22	50	45.55	6.81	0.034	"	"	"	
29-5-09	98	25	29	50	45.15	7.37	0.037	"	"	"	
	98	25	29	50	45.1	7.44	0.037	"	"	"	
5-6-09	99	25	36	50	43.9	9.13	0.046	"	"	"	
	99	25	36	50	43.9	9.13	0.046	"	"	"	

TABEL XIII.

Paardechromocyten met leucocyten.

No. 110 en 111 een half uur verhit op 90°; No. 112 en 113 niet verhit.

DATUM.	No.	Hoeveelheid materie.	Duur der autolyse.	Vloeistof op volumen.	Toegevoegd $\frac{n}{10}$ NaOH.	Hoeveelheid stikstof per 10 c.c.M.	Totale hoeveelheid stikstof.	Reactie t.o.v. lakmoes.	Biurectreactie.	Cultures.	
4-6-09		Gr.	Dag.	c.c.M		m.Gr.	Gr.				
17-6-09	110	40	13	50	49.25	1.61	0.008	alk.	neg.	neg.	Titer = 10.1
		40	13	50	49.4	1.40	0.007	"	"	"	
5-7-09	111	40	30	50	48.25	3.02	0.015	"	"	"	
		40	30	50	48.4	2.80	0.014	"	"	"	
17-6-09	112	40	13	50	48.1	3.23	0.016	"	"	"	
		40	13	50	48.2	3.09	0.015	"	"	"	
5-7-09	113	40	30	50	46.1	6.04	0.030	"	"	"	
		40	30	50	46.2	5.89	0.029	"	"	"	

TABEL XIV.

Chromocytenbrij met leucocytenbrij.

(Niet verhit).

8-10-09		Gr.	Dag.	c.c.M		m.Gr.	Gr.				Titer = 10.1
28-10-09	123	—	20	50	48.2	3.09	0.015	alk.	neg.	neg.	
	123	—	20	50	48.25	3.02	0.015	"	"	"	
	124	—	20	50	47.6	3.93	0.019	"	"	"	
	124	—	20	50	—	—	—				
	125	—	20	50	48.6	2.53	0.013	"	"	"	
	125	—	20	50	48.7	2.39	0.012	"	"	"	

FIGUUR NO. 1. (Zie Tabel V).
AUTOLYSE VAN GEDEFINIBREERD KALFSBLOED.

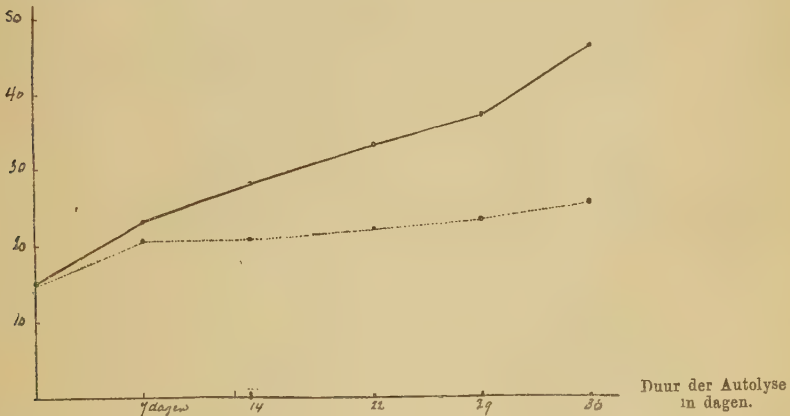
Hoeveelheid
opgeloste stikstof
in milligrammen.



— niet verhit bloed; tot koken verhit bloed.

FIGUUR NO. 2. (Zie Tabel XII).
AUTOLYSE VAN DE CHROMOCYTEN VAN HET PAARD.

Hoeveelheid
opgeloste stikstof
in milligrammen.



— niet verhitte chromocyten; tot 25° verhitte chromocyten.

STELLINGEN.

I.

Roode bloedlichaampjes vertoonen autolyse.

II.

Het is niet bewezen, dat autolyse gedurende het leven bestaat.

III.

Aseptische autolyse en vettige degeneratie zijn niet identieke processen.

IV.

De congenitale cystenier ontstaat door een fout in aanleg.

V.

Wanneer bij een zuigeling temperatuursverhooging optreedt zonder fysisch aantoonbare afwijkingen, denke men allereerst aan een alimentaire koorts.

VI.

Zoowel op theoretische als op praktische gronden moet een fermenttherapie tegen maligne tumoren worden afgekeurd.

VII.

De conjunctivitis phlyctaenularis wordt gewoonlijk veroorzaakt door staphylococcen.

VIII.

Ten onrechte beveelt STÖCKEL sacrale anaesthesie aan ter vermindering der pijnlijkheid bij den partus.

IX.

Bij de behandeling van niet-beenige ankylosen probeere men eerst een systematische kuur met fibrolysine.

X.

Bij een diphtheritische larynxstenose verrichte men tracheotomie.

XI.

Prophylactische injectie van serum antidiphthericum verdient geen aanbeveling.

XII.

De nieuwere methoden (van JACOBY, GROSS, e.a.) voor het kwalitatief en kwantitatief aantoonen van fermentwerking verdienen den voorkeur boven de oudere (van METT, BIDDER-SCHMIDT e.a.).

XIII.

De oprichting van prisons asiles verdient geen aanbeveling.

XIV.

Een staatsexamen voor verplegenden is af te keuren.

DRUK VAN J. H. DE BUSSY, AMST.